Déclenchement d'activité ectopique et infidélité de la transmission dans un axone endommagé : une modélisation fondée sur le décalage cinétique des canaux sodiques

Mathieu Lachance
B. Sc. Université Laval 2003

thèse soumise à la
Faculté des Études supérieures et postdoctorales
dans le cadre des exigences
du programme de maîtrise en physique

Institut de physique Ottawa-Carleton
département de physique
Université d'Ottawa



Sommaire

Les neurones endommagés développent de l'activité ectopique, c'est-à-dire qu'ils déchargent en l'absence de stimulus, ce qui engendre ensuite des douleurs neuropathiques. Des mesures expérimentales ont lié cette activité ectopique à un décalage cinétique (*coupled left-shift, CLS*) des canaux sodiques tensiodépendants. Nous avons donc construit un modèle numérique d'axone où une portion endommagée subit un tel décalage. Deux résultats fondamentaux et nouveaux sont obtenus :

1) En présence d'activité ectopique, une stimulation à haute fréquence peut entraîner la zone ectopique de l'axone à décharger à la même fréquence que le stimulus. La propagation est alors presque normale.

2) Dans un axone faiblement endommagé, sans activité ectopique au départ, un stimulus temporaire peut *déclencher* une activité ectopique qui perdure. Ceci amplifie le stimulus et peut donc être lié aux symptômes de douleurs neuropathiques.

En plus de ces travaux de recherche, cette thèse propose une imposante section pédagogique, adressé au physicien qui débute en neurosciences.

Summary

Injured neurons exhibit ectopic activity (*ie*. they fire without being stimulated), leading to neuropathic pain. Experiments have linked this ectopic activity to a kinetic shift (*coupled left-shift, CLS*) of the voltage-gated sodium channels. Therefore, we have designed a computational model axon where a damaged zone is affected by such a left-shift. Two important novel results were obtained :

1) In an ectopic axon, high-frequency stimulation can force the ectopic zone to phase-lock to the stimulation frequency. Propagation is then almost normal.

2) In a weakly damaged axon, without initial ectopic activity, a short stimulus can *trigger* a long lasting ectopic activity. This amplifies the stimulus and can thus be linked to neuropathic pain-like symptoms.

In addition to this research work, this thesis encompasses a large educational section, addressed to physicists just starting in neuroscience.

Déclaration d'originalité

Les travaux présentés dans cette thèse sont, à ma connaissance, entièrement nouveaux et originaux. En plus des deux chapitres et des trois appendices de mon cru, ils comprennent un article à vocation pédagogique et un article de recherche.

Contribution à la rédaction des articles : J'ai rédigé seul l'article pédagogique présenté au chapitre 2 et la première version de l'article de recherche présenté au chapitre 4. Ce dernier a ensuite été retravaillé, surtout dans ses sections d'introduction et de discussion, avec trois des autres coauteurs, André Longtin, Béla Joós et Catherine E. Morris, pour donner la version finale présentée ici.

Contribution au contenu des articles : Dans le cas de l'article pédagogique présenté au chapitre 2, ma contribution est totale puisque j'en suis le seul auteur. J'ai conçu seul les deux projets, le premier se fondant sur un modèle déjà existant alors que le second est fondé sur un modèle original de mon cru.

Dans le cas de l'article de recherche présenté au chapitre 4, ma contribution est majoritaire. Notamment, tous les résultats présentés dans cet article ont été produits par mon propre programme (codé en langage C). J'ai cependant bénéficié de plusieurs contributions : d'abord, le modèle s'inscrit dans la lignée des travaux de Na Yu et de Pierre-Alexandre Boucher et une partie de mon code a été inspiré du leur ; ensuite, les étapes de modélisation ont été guidées par mes codirecteurs de thèse André Longtin et Béla Joós, de même que par des apports réguliers de Catherine E. Morris ; enfin, quelques discussions-clé avec André Longtin et Richard Naud ont permis des déblocages à diverses étapes des travaux de simulation.

Remerciements

Cette thèse ne saurait être abordée sans que je prenne d'abord le temps d'exprimer ma gratitude à un bon nombre de personnes qui ont rendu ce projet possible.

Tout d'abord, j'aimerais remercier André Longtin d'avoir cru en moi dès la toute première rencontre, au moment où j'ignorais tout du généreux financement que j'allais recevoir et espérais poursuivre ma maîtrise à temps partiel. Malgré les nombreux écueils qu'aurait probablement rencontré ce projet sans ma libération d'enseignement, il m'a recruté sans hésitation. C'est aussi lui qui a proposé la codirection de Béla Joos, que j'ai grandement appréciée. J'aimerais aussi remercier Konstantin Popov, Ivan L'Heureux, André Longtin et Béla Joos pour les stimulants cours gradués qu'ils m'ont enseignés et dont chacun a été pertinent à la poursuite de ma recherche ou à la rédaction de cette thèse.

Faire de la recherche n'est pas un acte solitaire : j'ai souvent bénéficié des discussions, des conseils et des recommandations du dynamique Richard Naud et, malgré la barrière de la langue, de sa prédécesseure Na Yu. De même, bien que moins fréquents, mes échanges avec Pierre-Alexandre Boucher ont toujours été instructifs. Collaborer avec Cathy Morris a aussi été un plaisir de chaque instant, la rencontre du théoricien et de l'expérimentatrice, du physicien et de la biologiste, mais surtout de deux passions pour la science. J'ai aussi apprécié les fascinants échanges et débats qu'ont suscité les autres étudiants de mon groupe de recherche, notamment Alexandre Payeur, Charles Garfinkle et Alexandre Melançon. Enfin, les partenaires de travail des nombreux cours gradués que j'ai suivis, Jean Liu, Shem Lau-Chapdelaine, Benoît Lecavalier, Louis Jacques, Charles Garfinkle et Julie Montgomery se sont avérés indispensables.

Faire une maîtrise nécessite aussi de garder l'équilibre et de s'aérer régulièrement l'esprit. À ce chapitre, j'ai d'abord apprécié l'amitié et les nombreuses discussions hors-sujet des autres locataires du MCD118. Des remerciements spéciaux vont à Alexandre Payeur, à Dave Houtman, à Akio Yoshinawa et à Jessica Lemieux, pour m'avoir permis de décrocher régulièrement. Côtoyer quotidiennement dans ce nouveau contexte mes propres anciens étudiants, Laurent, Maude, Julie et Alexandre, a aussi été apprécié. Enfin, j'adresse un merci spécial à des collègues, amis ou étudiants du cégep de l'Outaouais qui m'ont aidé à traverser des moments moins faciles à l'hiver 2013, certains à leur insu : Claude Desruisseaux, Simon Lespérance, Vicky, Jonathan, Mélodie, Jean-Maxime, votre joie a su être contagieuse.

En terminant, j'aimerais saluer la patience et le dévouement de ma douce et vivifiante Eliane, qui connaît bien ma soif pour les ambitieux projets et m'a soutenu tout au long de cet exaltant périple. Tu es la meilleure d'entre toutes. Depuis la dernière fois que j'ai signé les remerciements d'un projet de taille comparable, la vie m'a aussi fait cadeau de deux merveilleux enfants, Aubert et Augustine, que je remercie aussi pour leur patience. Pour les mois à venir, mon temps avec vous trois sera maintenant moins mesuré.

Table des matières

Liste complète des figures

Chapitre 1 : Guide du débutant

Chapitre 2 : Article pédagogique

Chapitre 3 : Membranes endommagées, questions de recherche et construction du modèle

Chapitre 4 : Article de recherche

Appendice A : Points-clé de dynamique non linéaire

Appendice B : Courants ioniques, potentiel de repos

Appendice C : Considérations informatiques

Liste des équations principales

Cette liste exclut les équations qui sont des étapes intermédiaires.

Chapitre 1 : Guide du débutant

Chapitre 2 : Article pédagogique

Mode d'emploi pour le lecteur

D'une façon peut-être peu conventionnelle, cette thèse se divise en deux parties, une thèse «classique», minimaliste, formée des chapitres 3 et 4 (et de l'appendice C), précédée d'une partie plus longue adressée au lecteur qui débute tout juste dans le domaine, formée des chapitres 1 et 2 (et des appendices A et B). Ce «mode d'emploi» présente ce que différentes catégories de lecteurs doivent savoir pour naviguer dans cet ouvrage volumineux.

Les neurosciences sont un domaine multidisciplinaire où, comme physicien, nous avons dû apprendre à interagir avec des biologistes dans leur langage. De plus, à notre arrivée à la maîtrise, à l'automne 2011, nous avons immédiatement trouvé, probablement comme bien des étudiants diplômés qui débutent, qu'il était difficile de rassembler de la documentation d'un niveau introductif pour m'attaquer au problème que nous avions choisi : la littérature suppose presque toujours que les bases sont connues du lecteur. Après dix années de carrière en enseignement, nous ferions un bien piètre pédagogue si nous laissions nos éventuels successeurs dans la même situation. C'est pourquoi les deux premiers chapitres de cette thèse se veulent une introduction aussi complète que possible adressée à quiconque poursuivrait un travail de recherche dans un domaine connexe au nôtre, c'est-à-dire la modélisation d'axones (endommagés ou non). Le lecteur académique jugera peut-être que ces deux chapitres divergent du format habituel d'une thèse, mais nous avons insisté pour les y inclure ; le lecteur débutant nous en sera, nous l'espérons, reconnaissant.

Le chapitre 1 est une introduction que nous avons intitulée «guide du débutant», composée de quatre sections : nous y traitons, respectivement, de notions élémentaires de biologie, du fonctionnement d'un potentiel d'action dans un neurone *sain*, de la structure des trois plus importantes protéines qui expliquent ce fonctionnement et de concepts élémentaires d'encodage neuronal. Nous y utilisons un ton informel, très explicatif, notamment en introduisant des exemples et des commentaires éditoriaux. L'approche est détaillée plutôt que concise, un très grand nombre de notions de base étant introduites avec soin. Les sujets couverts ne se limitent pas au strict nécessaire requis pour aborder nos travaux de recherche, mais visent à donner un aperçu un peu plus large du domaine. En somme, *un effort considérable a été déployé pour donner à ce chapitre la saveur d'un manuel introductif plutôt que celle d'un article scientifique.* Le nombre de préalables requis pour la lecture de ce chapitre a été maintenue au minimum, de sorte qu'il soit envisageable qu'un lecteur non physicien puisse aussi en suivre de larges pans. Les principaux termes techniques de ce chapitre, de même que ceux du chapitre 3 et des appendices, font aussi l'objet d'un index. De plus, à la fin de chaque section du premier chapitre, quelques références sont commentées pour diriger une lecture introductive plus poussée, un ordre de lecture étant aussi recommandé. Pour ce premier chapitre et en particulier pour ces guides de lecture, plusieurs références ont été choisies d'abord en fonction de leur qualité pédagogique plus que pour leur intérêt dans un contexte de recherche.

Le chapitre 2 est un article ayant été soumis à *American Journal of Physics* et qui a donc une visée pédagogique. Il apporte des précisions conceptuelles au sujet du fonctionnement

d'un potentiel d'action. Il reprend l'essentiel du fonctionnement d'un neurone normal, mais d'une façon nettement plus concise que dans le chapitre 1. Le lecteur débutant dont le temps est compté pourra en tirer avantage.

Les appendices A et B complètent les chapitres 1 et 2, le premier en présentant des éléments de dynamique non linéaire, et le second, plus de détails sur la théorie des courants transmembranaires. Ces deux appendices ne contiennent aucun élément de recherche.

Partie classique de la thèse. Le lecteur déjà expérimenté dans le domaine pourra sauter sans perte de continuité les chapitres 1 et 2 et passer directement à la thèse «classique», qui débute avec l'introduction qui précède le chapitre 3. Cette introduction annonce le contenu des deux derniers chapitres, soit la partie classique de cette thèse, qui cible plus spécifiquement mes travaux de recherche et les résultats qu'ils ont produit.

Essentiellement, le chapitre 3 comporte la formulation du problème de recherche et du modèle, de même qu'une revue de la littérature pertinente. Contrairement au chapitre 1, qui «ratisse large», le chapitre 3 se veut succinct et centré sur le problème de recherche. Le chapitre 4, lui, est un article, soumis à *Proceedings of the National Academy of Science*, qui présente nos résultats de recherche.

Notons que l'appendice C porte sur les différents aspects informatiques utilisés pour l'implantation numérique. Il contient certains compléments au chapitre 1, mais surtout des aspects techniques de la modélisation, qui s'inscrivent clairement dans la suite du chapitre 3.

Hiérarchie des titres. Comme le montre un bref coup d'oeil à la table des matières, les chapitres 1 et 3 de cette thèse, de même que les appendices, utilisent une hiérarchie des titres. Nous avons donné des noms à chaque niveau de titre et y référons à l'occasion dans le texte pour guider le lecteur, qui a donc avantage à les distinguer.

À l'exception de courts paragraphes introductif, chaque mot de cette thèse appartient d'abord à un *bloc*, qui, lui, appartient à une *section*, laquelle appartient à un *chapitre*. Certaines sections très longues ont été subdivisées en sous-sections. Par exemple, le premier chapitre comporte la section «1.A) Anatomie et physiologie cellulaires» ou la sous-section «1.B2) Le potentiel de membrane dans les cellules non excitables». Cette dernière sous-section débute avec le bloc «1.B2.1 L'équilibre de Nernst».

De plus, il peut arriver que nous guidions la lecture en utilisant un niveau de titre supplémentaire, inscrits en italique à même la ligne qui débute le paragraphe, comme nous l'avons d'ailleurs fait ci-dessus lorsque nous avons annoncé «*Hiérarchie des titres*.» Les titres de ce dernier niveau ne sont pas numérotés et leur usage n'est pas systématique : il peut arriver que certains blocs en contiennent, d'autres pas ; il peut aussi arriver, comme c'est d'ailleurs le cas dans ce «mode d'emploi», que des parties du texte d'un bloc soit coiffée de titres en italique alors que le reste du même bloc ne l'est pas. Il faut simplement considérer les titres en italique comme des guides de lecture et non comme un moyen systématique d'hiérarchiser le texte. Seules les sections et les blocs sont utilisés à cette

dernière fin.

Soulignons que cette présentation ne s'applique pas aux chapitres 2 et 4. En effet, ces chapitres sont des manuscrits d'articles et leur reproduction dans la présente thèse est fidèle à la version soumise.

Numérotation des figures et des équations. Pour identifier les figures et les équations, nous procédons de la même façon que les blocs, c'est-à-dire avec le numéro du chapitre, la lettre de la section et un numéro séquentiel. Par exemple, la première figure de la section A du chapitre 3 est la «figure 3.A.1».

Encore ici, on note que cette présentation ne s'applique pas aux articles présentés aux chapitres 2 et 4. Dans les rares éventualités où un autre chapitre réfère à une figure de ces articles, nous écrivons, par exemple «la figure 2 du chapitre 4».

Cette page est intentionnellement blanche.

Chapitre 1 : Guide du débutant

Dans ce chapitre, nous introduisons les notions de base nécessaires à aborder le domaine. La section 1.A présente des notions anatomiques et biochimiques élémentaires s'adressant au lecteur qui n'a jamais étudié la biologie. La section 1.B introduit les phénomènes électriques qui sont à la base du fonctionnement de l'influx nerveux dans un axone *sain* et se termine avec le modèle Hodgkin-Huxley, que nous utilisons dans nos travaux de recherche. L'article pédagogique présenté au chapitre 2 vise à compléter cette section 1.B en insistant sur les difficultés conceptuelles. La section 1.C présentera les trois protéines-clé du mécanisme de l'influx nerveux. La section 1.D survolera les notions de base d'encodage neuronal. Chaque section est indépendante des autres, de sorte que le lecteur débutant peut puiser à la pièce ce qu'il lui manque pour entreprendre la lecture des chapitres 3 et 4.

1.A) Concepts de biologie cellulaire

Dans cette section, nous survolons des notions de base en biologie, en annonçant le contexte dans lequel elles seront pertinentes dans nos travaux et en apportant autant que possible une saveur biophysique. Sont au menu les parties de la cellule et particulièrement des neurones, la structure des membranes cellulaires, le rôle et la structure des protéines et la cinétique de réactions enzymatiques. La majorité du contenu de cette section est normalement acquise dans le premier cours de biologie d'un DEC en sciences de la nature ou d'un programme universitaire ontarien ; néanmoins, nous avons bonifié plusieurs notions par des précisions physiques d'un niveau plus avancé, qui correspondraient au niveau d'un cours de physique biologique de dernière année de baccalauréat.

1.A.1 La cellule, unité de la vie

La **cellule** est à la biologie ce que l'atome est à la physique ou à la chimie : un atome peut être subdivisé, mais demeure la plus petite unité possible d'un élément ; de la même façon, la cellule comporte des parties, mais est la plus petite unité qui puisse être considérée comme *vivante*, les êtres vivants les plus simples étant faits d'une seule cellule. Comme le montre le schéma présenté à la **figure 1.A.1**, la cellule est délimitée par une **membrane plasmique**, dont nous représenterons toujours l'intérieur en jaune ocre sur nos schémas et qui, comme nous le verrons, gère les échanges avec le milieu extérieur.

Parties pertinentes de la cellule. On distingue deux types de cellules. Les cellules *procaryotes* (étymologiquement : «avant le noyau») ne comportent aucun compartiment interne et seuls des êtres vivants comme les bactéries, presque tous unicellulaires, sont faits de telles cellules. Dans le cadre de nos travaux, ces cellules sont donc sans intérêt. En revanche, tous les êtres vivants multicellulaires comportant un système nerveux, dont les humains, sont faits de nombreuses **cellules eucaryotes**, c'est-

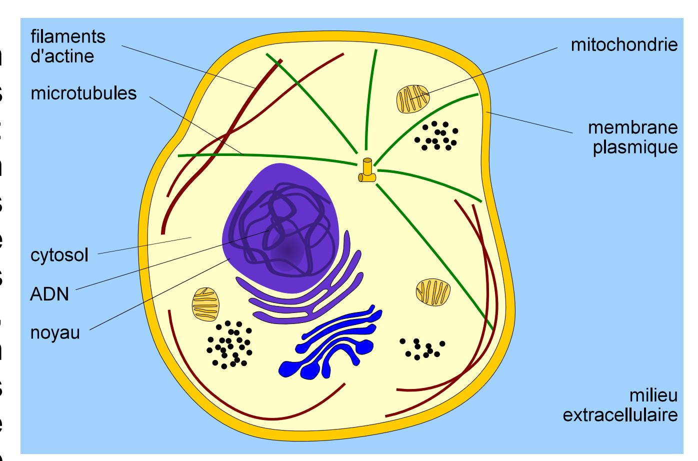


Figure 1.A.1 Quelques organites et autres éléments d'une cellule eucaryote.

à-dire de cellules comportant diverses subdivisions internes, dont le **noyau cellulaire**, qui contient le matériel génétique sous forme de molécules d'ADN, et plusieurs autres organites ayant diverses fonctions (la figure 1.A.1 illustre quelques-uns d'entre eux). Ces organites sont délimités par une membrane, parfois double, ayant la même structure que la membrane plasmique (Campbell 2007, chap. 6).

Machinerie moléculaire. Pour assurer la vie, c'est-à-dire notamment sa capacité à s'organiser, à contrôler sa composition et à se dupliquer, la cellule doit gérer de nombreuses réactions chimiques et processus mécaniques. Elle y parvient en synthétisant diverses molécules dont chacune joue un rôle spécialisé. Ces dernières sont souvent des **polymères**, c'est-à-dire des macromolécules formées de la jonction d'un grand nombre de molécules élémentaires, un peu à la façon d'un collier de perles. La plupart de ces macromolécules appartiennent à la catégorie des **protéines**, sur laquelle nous reviendrons d'ici la fin de la section. L'information requise pour synthétiser chaque polymère qui compose une macromolécule est portée par un **gène**, c'est-à-dire un segment d'ADN. Quand une cellule synthétise un polymère, on dit qu'elle *exprime* le gène correspondant.

Taille des cellules. Les cellules eucaryotes mesurent typiquement une *dizaine de micromètres* (dix fois plus que les cellules procaryotes), bien que certaines puissent exceptionnellement atteindre une taille de l'ordre du millimètre. Ces ordres de grandeur s'appliquent aussi au diamètre des prolongements de cellules qui transportent l'influx nerveux. Fondamentalement, la largeur d'une cellule est limitée par le rythme auquel la diffusion peut assurer l'entrée et la répartition volumique des molécules requises pour les réactions chimiques effectuées par la cellule (Nelson 2008, chap. 4).

Fluides interne et externe. Les organites d'une cellule eucaryote baignent dans un liquide interne à la cellule, le **cytosol**, un gel aqueux qui contient des centaines de variétés de molécules organiques et de nombreux ions. De plus, toutes les cellules d'un animal baignent dans un liquide externe à la cellule, le **liquide interstitiel**, irrigué par les vaisseaux sanguins qui y diffusent des nutriments et de l'oxygène tout en l'en débarrassant des déchets. Ce qui importera pour le fonctionnement des neurones est que ce milieu extracellulaire comporte de nombreux ions en solution, dont la concentration est régulée (Marieb 2010, chap. 26). Les ions Na^+ et K^+ nous intéresserons tout particulièrement.

Pour nos travaux, comprendre la structure de la membrane plasmique et la structure générale et le rôle des protéines qui y sont enchâssées est, dans une large mesure, plus important que de connaître le contenu de la cellule. Nous allons donc élaborer sur ces deux derniers aspects, dès que nous nous serons penché sur la structure des neurones.

1.A.2 L'anatomie des neurones

La majorité des êtres vivants sont unicellulaires (bactéries, etc.) mais les animaux, entre autres, sont faits de cellules qui sont différenciées, c'est-à-dire de cellules qui se spécialisent dans une tâche particulière : bien qu'elles possèdent toutes le même bagage génétique, divers stimuli imposent à une cellule donnée de n'utiliser qu'une partie de ce bagage, celle pertinente à sa spécialisation. En somme, les cellules ayant des spécialisations différentes expriment des gènes différents. Chaque type de cellule synthétise donc une combinaison de protéines propre au tissu biologique dont elle fait partie.

Parmi les cellules différenciées, les **neurones** sont celles qui se spécialisent dans la transmission de l'influx nerveux. À cette fin, les neurones font partie de la catégorie des *cellules excitables*, une caractéristique qu'elles partagent avec les cellules musculaires et quelques autres cellules (notamment des cellules glandulaires et ovules fécondés). Nous reviendrons à la section 1.B sur les phénomènes électriques qui distinguent les cellules excitables des autres cellules.

Prolongements d'un neurone. Contrairement aux autres cellules, qui demeurent localisées, les neurones comportent de longs prolongements filamenteux, qui leur permettent de jouer leur rôle de transmission. Il y a deux types de prolongements : ceux qui font *entrer* l'information (un neurone peut en compter des milliers, formant une arborescence complexe) et celui qui constitue la *sortie* (chaque neurone en compte un et un seul).

La **figure 1.A.2** illustre les parties d'un neurone. Les nombreux prolongements d'entrées sont appelés **dendrites** et permettent au neurone de percevoir des stimuli. Le neurone dont des dendrites sont stimulés peut avoir deux réactions possibles : selon le nombre de stimuli, leur synchronisation et la forme du neurone stimulé, ce dernier peut produire, ou non, un influx nerveux. Quand c'est le cas, ce dernier chemine par le prolongement de sortie, qui s'appelle l'**axone** et qui peut mesurer jusqu'à plus d'un mètre de long. À l'extrémité finale de l'axone se trouvent un ou plusieurs **boutons terminaux** dont chacun stimule une autre cellule quand il reçoit un influx nerveux. Le lieu de l'interaction avec la cellule stimulée (et qui peut être un autre neurone) s'appelle une **synapse**. Sauf exception, une synapse fonctionne par la libération, dans un mince espace de liquide interstitiel qui sépare les deux cellules, de marqueurs chimiques détectés par la cellule postsynaptique et appelés **neurotransmetteurs**.

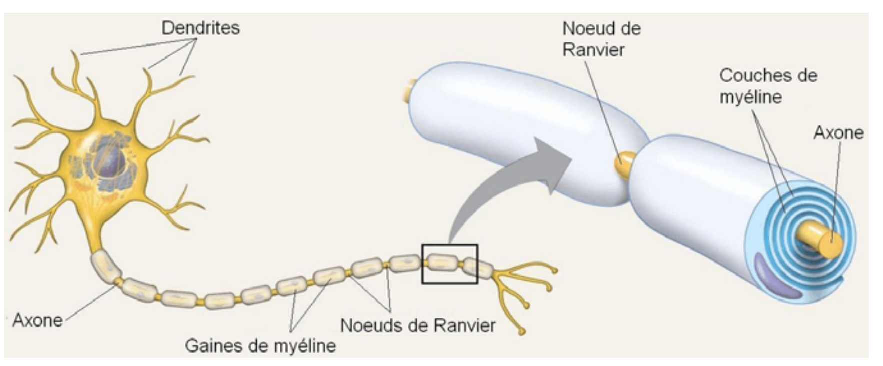


Figure 1.A.2 Anatomie d'un neurone. Celui illustré est un neurone moteur. (Figure adaptée de Campbell 2007)

Fonctions des neurones. On peut trier les neurones en trois grandes catégories (Campbell 2007, section 48.1 ; Marieb 2010, chap. 11). Les **neurones sensitifs**, dont les corps cellulaires sont situés dans les **ganglions spinaux** situés de part et d'autre de la colonne vertébral, permettent de percevoir les sensations et de les acheminer au système nerveux central. Leurs dendrites sont donc stimulés par des détecteurs sensoriels spécialisés, chacun sensible à un stimulus spécifique (chaleur, froid, pression, douleur, etc.) Le bouton terminal d'un neurone sensitif est typiquement relié à un interneurone. Les **interneurones** permettent d'intégrer l'information et d'entraîner, s'il y a lieu, une réaction appropriée. Selon la nature du stimulus sensoriel, ce dernier sera acheminé à seulement quelques interneurones (comme dans le cas d'un stimulus qui déclenche un réflexe) ou à des centaines de milliers d'entre eux (comme dans le cas d'un stimulus complexe, comme le langage, dont l'intégration requiert l'interaction de plusieurs aires du cortex cervical). Enfin, les **neurones moteurs**, aussi appelés neurones *effecteurs*, sont ceux dont les boutons

terminaux sont reliés à un organe ou encore à un muscle (dont ils causent la contraction). Globalement, les interneurones forment le **système nerveux central**, formé du cerveau et de la moelle épinière, alors que les neurones sensitifs ou moteurs forment le **système nerveux périphérique**. Au chapitre 3, nous discuterons plus spécifiquement de la perception de la douleur et des dysfonctions qui entraînent des douleurs neuropathiques.

Description de l'axone. Les travaux de recherche que nous introduirons au chapitre 3 portent exclusivement sur l'influx nerveux qui circule *dans l'axone*. Dans la section 1.B, nous reviendrons largement sur la nature exacte de cet influx nerveux et verrons qu'il prend la forme de *potentiels d'action*. Pour le moment, approfondissons notre description de l'axone. Le long de ce prolongement, la membrane plasmique est souvent appelée **axolemme**, alors que le contenu de l'axone, formé du cytosol et des organites, est souvent appelé **axoplasme**. La conductance électrique de l'axoplasme est l'une des propriétés qui détermine, entre autres, la vitesse de propagation de l'influx nerveux.

Chez les vertébrés (et quelques invertébrés), la plupart des neurones n'ont pas des axones lisses et uniformes (Hartline 2008). Ces derniers sont plutôt, comme l'illustre la figure 1.A.2, recouverts de gaines de **myéline**, des structures répétitives ayant presque toutes une longueur comparable. Seuls les **noeuds de Ranvier** ne sont pas recouverts de myéline ; ce sont de petites portions de la membrane plasmique de l'axone, espacées de façon régulière, en contact direct avec le liquide extracellulaire. La gaine de myéline est produite par des cellules de soutien, qui s'enroulent autour de l'axone et peuvent produire jusqu'à 300 strates (voir figure 1.A.2). Il s'agit des cellules de Schwann dans le système nerveux périphérique et des oligodendrocytes dans le système nerveux central. Dans la section 1.B, nous verrons que la myéline joue un rôle fondamental dans la vitesse de l'influx nerveux.

Taille des axones. Enfin, soulignons que les axones chez les mammifères ont typiquement un diamètre d'un à quinze micromètres, exceptionnellement davantage. Ces diamètres correspondent grossièrement à l'échelle de grandeur générale des cellules eucaryotes, que nous avons préalablement énoncée. De plus, chez les espèces où la myélinisation n'existe pas, quelques axones peuvent atteindre un diamètre nettement plus élevé afin de favoriser une circulation plus rapide de l'influx nerveux. Les axones les plus larges sont observés chez les céphlopodes, où ils peuvent atteindre un diamètre de l'ordre de mille micromètres. Parmi ces derniers, les axones dorsaux du calmar ont joué un rôle fondamental à l'aube de la recherche en neurosciences, puisqu'ils avaient une taille suffisante pour y insérer aiguilles et électrodes.

Variabilité biologique. Comme nous l'avons laissé transparaître dans la discussion, les axones ne sont pas identiques entre eux mais *similaires* : leurs propriétés présentent une **variabilité**. Cet aspect distingue la biologie d'une science comme la physique, qui traitent d'objets tous identiques entre eux (comme les électrons, les protons, les molécules d'eau).

Ayant complété notre description de la cellule, nous pouvons approfondir, tel qu'annoncé, deux aspects centraux pour nos travaux : la membrane plasmique et les protéines.

1.A.3 La membrane plasmique est surtout une bicouche

La membrane qui compose la frontière entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule est

composée de molécules **amphipathiques**, c'est-à-dire de molécules comportant à la fois une *partie polaire*, capable d'interagir avec les molécules d'eau en formant avec elles des ponts hydrogène[1], et d'une *partie non polaire*, incapable d'ainsi interagir avec l'eau (Nelson 2008, sections 8.4 - 8.6).

La grande majorité des molécules amphipathiques qui composent les membranes cellulaires appartiennent à la catégorie des **phospholipides**, ce qui signifie qu'elles sont formées d'une «tête» polaire comportant notamment un ion *phosphate* et de deux «queues» non polaires, chacune faite à partir d'un *acide gras* (chaîne hydrocarbonée terminée par un groupement COOH). Les phospholipides peuvent varier entre eux par la composition de leurs queues (longueur, nombre et position des liens doubles) et par celle de leurs têtes (toujours composée d'un glycérol et d'un ion phosphate, mais auxquels peuvent s'ajouter d'autres groupements) (Campbell 2007, section 7.1). La **figure 1.A.3** illustre, en haut, un exemple particulier de phospholipide (il s'agit d'une lécithine, très présente dans les membranes plasmiques des cellules du système nerveux) ainsi que, en bas, une représentation symbolique qui est régulièrement utilisée dans les manuels pour représenter de façon générique tout phospholipide.

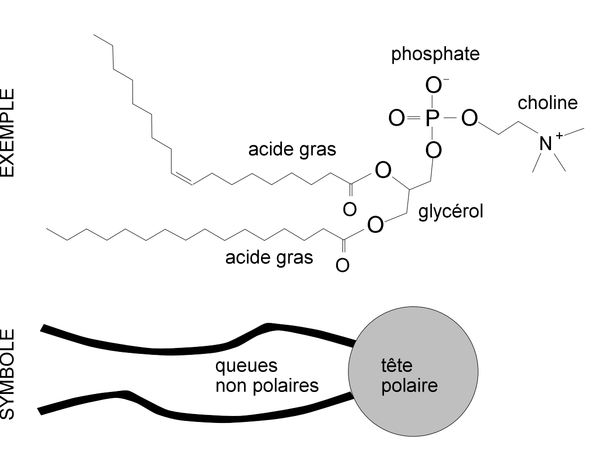


Figure 1.A.3 Un symbole permet de représenter les phospholipide, dont un exemple est ici représenté.

Propriétés générales des molécules amphipathiques. En raison de leurs propriétés, les molécules amphipathiques, phospholipides ou autres, sont omniprésentes dans l'industrie : elles composent le savon, sont des émulsifiants stabilisant des solutions hétérogènes, permettent de mettre en solution des molécules polaires et non polaires qu'on veut faire réagir ensemble, etc. Au chapitre 3, nous allons aussi discuter d'inhibiteurs utilisés pour agir sur des membranes endommagées, plusieurs desquels sont amphipathiques. Avant de poursuivre notre exposé sur les membranes, présentons quelques propriétés de cette catégorie de molécules qui composent les membranes cellulaires.

Si on place des molécules amphipathiques dans de l'eau pure, elles y sont solubles en raison de leur partie polaire. Cependant, si elles ont accès à une *interface* entre l'eau et un autre milieu, on les retrouvera majoritairement à cette interface, leur partie polaire en contact avec l'eau et leur partie non polaire, hors de l'eau. Une telle interface se produit dans tout mélange hétérogène (par exemple un mélange d'eau et de fine gouttelettes d'huile) mais aussi dans l'eau pure, par exemple si on retrouve une surface libre (interface eau-air). Puisqu'il est plus probable de trouver hors de l'eau la partie non polaire d'une molécule amphipathique, on la dit souvent *hydrophobe*. Pour des raisons analogues, la partie polaire est dite *hydrophile*.

[1] Rappelons que le **pont hydrogène** est un type de liaison reliant un atome d'hydrogène et un atome assez électronégatif, comme l'oxygène ou l'azote. C'est une liaison 20 fois plus faible qu'un lien covalent, mais 10 fois plus forte que les liaisons de Van der Walls.

Interaction hydrophobe. Contrairement à la partie hydrophile d'une molécule amphipathique, qui est effectivement attirée par les molécules d'eau en raison des ponts hydrogène, la partie hydrophobe n'est pas «attirée» par l'huile ou par l'air, bien que c'est souvent ce que laissent entendre les manuels d'introduction. Néanmoins, les entités non polaires (hydrophobes) placées en milieu aqueux se regroupent *entre elles*, minimisant ainsi leur contact avec l'eau, par un effet entropique appelé **interaction hydrophobe**. Il y a donc *apparence d'attraction* entre les entités hydrophobes. (Cet effet affecte autant les parties non polaires des molécules amphipathiques que les molécules d'huile elles-mêmes, qui forment donc des gouttelettes au lieu de se mélanger uniformément à l'eau.)

On peut expliquer cette interaction hydrophobe grâce à la mécanique statistique (Nelson 2008, chap. 7) : si on considère les molécules d'eau en contact avec une molécule (ou partie de molécule) non polaire, chacune d'elles ne peut former de ponts hydrogène avec l'entité non polaire située «devant» elle, et n'en forme donc qu'avec les autres molécules d'eau situées «derrière» ou «à côté». Ainsi, pour maximiser le nombre de ponts hydrogène, cette molécule d'eau pointe nécessairement ses deux liens O-H vers «derrière» ou vers le «côté», mais jamais vers «devant». Par conséquent, le nombre de façons dont cette molécule d'eau peut se placer est considérablement réduit. En d'autres termes, *l'entropie*[2] *des molécules d'eau en contact avec une entité non polaire est plus faible que celles des molécules d'eau qui ne sont en contact qu'avec d'autres molécules polaires*. Comme le hasard des collisions dues à l'agitation thermique favorise statistiquement la croissance de l'entropie du système, il est donc probable qu'elles aient tendance à *regrouper* tout ce qui est non polaire, car cela réduit la surface de contact avec l'eau et réduit donc le nombre de molécules d'eau dont l'entropie est faible[3]. Ainsi, l'interaction hydrophobe est due à des forces exercées *par les molécules d'eau* et non une réelle interaction entre les entités hydrophobes.

Organisation spontanée des phospholipides en bicouches. Quelle est l'importance des propriétés amphipathiques des phospholipides composant les membranes cellulaires ? De la même façon que l'interaction hydrophobe correspond à une attraction apparente des parties hydrophobes de ces molécules par l'huile ou par l'air, elle correspond également à une attraction des parties hydrophobes de phospholipides *entre elles*. Ainsi, si on place suffisamment de molécules amphipathiques dans de l'eau pure, leurs parties non polaires ont tendance à se regrouper *spontanément* entre elles et à s'isoler de l'eau. (Une fois que l'interaction hydrophobe les a ainsi regroupées, les parties non polaires commencent à interagir entre elles par des forces de Van der Walls. Une fois groupées, elles ont donc tendance à le demeurer.) En parallèle, l'attraction entre l'eau et les parties hydrophiles des molécules amphipathiques, due aux ponts hydrogènes, fait en sorte que ces parties hydrophiles ont tendance à rester en contact avec l'eau. La combinaison de ces deux

---

[2] Par définition, l'entropie est $S = k_B \ln \Omega$, où Ω est le nombre de microétats accessibles compte tenu des contraintes macroscopiques mesurables. Dans le cas présent, pour chaque position possible d'une molécule d'eau, il y a autant de microétats qu'il y a d'orientations possibles pour cette molécule. Doubler le nombre d'orientations possibles pour une seule molécule d'eau a donc pour effet de doubler le nombre total de microétats accessibles au système.

[3] Plus précisément, il faut minimiser l'énergie libre du système $E - TS$ et non uniquement maximiser son entropie. En effet, créer et détruire des ponts hydrogènes entraîne un coût énergétique qui, s'il est positif, ne sera compensé par un gain en entropie que si la température est suffisante. (Formellement, on utilise l'énergie libre de Gibbs, $E + pV - TS$, mais les variations de l'énergie libre de Helmholtz, $E - TS$, sont équivalentes vu la constance du volume en milieu aqueux.)

phénomènes conduit donc un grand nombre de molécules amphipathiques à *s'organiser spontanément*, adoptant une géométrie où leurs parties hydrophobes sont isolées de l'eau alors que leur parties hydrophiles sont en contact avec l'eau (Nelson 2008, chap. 7).

Il existe plusieurs géométries qui permettent aux molécules amphipathiques en général d'ainsi se regrouper pour ne présenter que leurs parties hydrophiles à l'eau ambiante. La géométrie qui sera adoptée spontanément dépend à la fois de la concentration des molécules amphipathiques et de leur géométrie individuelle. Par exemple, elles peuvent former une sphère appelée *micelle*, dont la surface est constituée des parties hydrophiles et dont le volume est formé des parties hydrophobes, mais à la condition que la taille des parties hydrophobes leur permette de tenir dans le volume en question. Une telle géométrie est donc adoptée de façon plus probable quand la partie hydrophobe est composée d'une unique chaîne hydrocarbonée. En revanche, les phospholipides ont une partie hydrophobe composée de *deux* queues hydrocarbonées, qui a donc à peu de choses près la même largeur que la partie hydrophile (voir la figure 1.A.3). En conséquence, une des géométries les plus probables pour de telles molécules est la **bicouche**, illustrée à la **figure 1.A.4**, où les phospholipides forment deux plans symétriques dont le côté hydrophile est tourné vers l'extérieur, là où l'eau se trouve, leur côté hydrophobe étant tourné vers l'intérieur, où des molécules d'eau se retrouvent rarement.

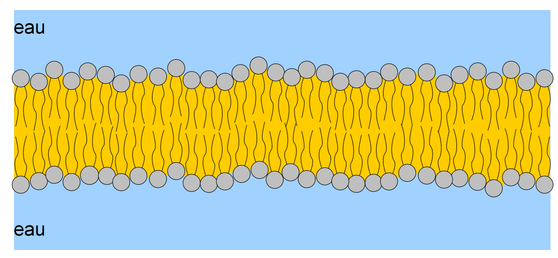


Figure 1.A.4 Dans l'eau, les phospholipides peuvent former spontanément une bicouche.

Localement, la bicouche a la forme d'un plan, mais à plus grande échelle, sa surface peut se courber, moyennant un coût énergétique faible, lui permettant de se fermer sur elle-même et de devenir la *structure de base d'une membrane cellulaire*. Diverses expériences ont pu confirmer qu'une membrane plasmique réelle est effectivement composée majoritairement d'une bicouche, notamment la séparation des deux couches après cryogénisation de l'eau située de chaque côté (Campbell 2007, section 7.1).

L'organisation géométrique de base d'une bicouche fermée sur elle-même se compare à celle de la fine membrane qui compose une bulle d'eau savonneuse. La principale différence est que, dans une telle bulle, l'eau est à l'intérieur plutôt qu'à l'extérieur ; les molécules amphipathiques qui composent le savon ont donc leur parties hydrophiles à l'intérieur, plutôt qu'à l'extérieur comme c'est le cas à la figure 1.A.4. Une seconde différence est aussi l'épaisseur : la bulle d'eau savonneuse contient de l'eau, alors que la bicouche n'est composée *que* des molécules de phospholipides. En conséquence, la bulle a une épaisseur de quelques centaines de nanomètres (comme le montre d'ailleurs son effet interférentiel sur la lumière visible) alors que la bicouche ne mesure que *4,5 nm d'épaisseur en moyenne*, une épaisseur qui ne peut que varier légèrement, selon les phospholipides qui la composent et leur organisation subséquente par la cellule. En somme, une image grossière serait d'assimiler la bicouche à une (mince) bulle faite surtout de lipides et située dans l'eau, plutôt qu'à une bulle faite surtout d'eau et située dans l'air.

Les propriétés d'une bicouche pure. On peut concevoir une bicouche comme une mince strate non polaire séparant deux milieux polaires. La strate non polaire étant composée des

queues hydrophobes de phospholipides, eux-mêmes des acides gras, plusieurs des propriétés physiques d'une bicouche s'approchent beaucoup de celles de l'huile végétale, elle aussi composée majoritairement d'acides gras. On s'attend donc à ce qu'elle soit un *isolant électrique*, ce qui jouera un rôle dans l'influx nerveux (voir la prochaine section).

Par ailleurs, bien que nous l'ayons comparé à une bulle de savon, fragile face à des forces macroscopiques, une bicouche pure dispose néanmoins d'une certaine élasticité malgré sa fluidité. En particulier, elle peut résister à une tension de surface de *quelques millinewtons par mètre*. Pour une cellule sphérique, une telle tension correspond par exemple à un excès de pression interne *de l'ordre de 300 Pa* (Nelson 2008, pp. 250-251).

Sur le plan biologique, la propriété la plus importante d'une bicouche pure est sa **perméabilité sélective** (Campbell 2007, section 7.2) : pour pouvoir la traverser, un composé en solution dans l'eau doit pouvoir se solubiliser dans la strate non polaire, diffuser au travers, puis se resolubiliser dans l'eau. En général, les petites molécules hydrophobes (comme CO_2, O_2) traversent relativement facilement, les petites molécules hydrophiles (notamment l'eau) traversent moins bien mais traversent tout de même lentement, les ions même petits ne traversent que de façon extrêmement lente et les macromolécules comportant des milliers d'atomes (comme l'ADN, les protéines, etc.) ne traversent pas du tout une bicouche pure. Nous allons maintenant voir, notamment, comment une membrane biologique réelle dispose toutefois de moyens pour contrôler cette perméabilité.

1.A.4 La membrane plasmique n'est pas qu'une bicouche

Jusqu'à présent, nous avons décrit les propriétés de bicouches *pures* : en laboratoire, on peut obtenir de telles bicouches pures à partir de phospholipides dans l'eau, les molécules y sont (latéralement) très mobiles, elle est pratiquement imperméable à tout composé chargé, etc. Une telle bicouche n'est toutefois que l'élément de base à partir desquelles les membranes biologiques réelles sont composées. La membrane plasmique d'une cellule n'a donc pas toutes les propriétés que nous venons d'énumérer.

Une membrane biologique est fluide mais structurée. Entre une bicouche artificielle et une membrane biologique, on note tout d'abord une importante différence sur le plan de l'organisation. Une bicouche pure est désorganisée : par exemple, si elle est composée de deux types de molécules amphipathiques, la diffusion assure que ces dernières se retrouvent en concentration égales et uniformes dans toute la surface de la bicouche et dans ses deux feuillets. Au contraire, une membrane biologique est *relativement organisée*. Tout d'abord, la composition des deux feuillets est différente, les nouveaux phospholipides synthétisés par la cellule étant insérés dans le feuillet interne et ensuite sélectivement échangés avec des molécules du feuillet externe (Lodish 2000, chap. 11). Ensuite, une membrane plasmique contient aussi des **radeaux lipidiques** (*lipid rafts*) qui composent jusqu'au tiers de sa surface. Ces radeaux sont des structures fluides mais plus compactes et ordonnées que le reste de la membrane, riches en molécules de cholestérol et dont la composition en phospholipides est différente (Simons 2002). Dans un radeau lipidique, les phospholipides *des deux feuillets* demeurent solidaires entre eux et se déplacent comme un tout (à la façon d'un radeau qui flotterait sur le reste de la membrane, d'où leur nom).

La fluidité de la bicouche suggère aussi une certaine mobilité. Une membrane biologique réelle, nous le verrons, est toutefois rigidifiée par une structure (cortex) faite de protéines et qu'on appelle son **cytosquelette**.

La cellule maintient cette plus faible entropie de sa membrane au prix d'une dépense d'énergie. Au chapitre 3, où nous introduirons notre modèle de recherche portant sur des cellules endommagées, nous verrons que la désorganisation et la fluidification de la membrane plasmique d'un neurone (par exemple, à un noeud de Ranvier) est au coeur des phénomènes clés que nous modélisons.

Une membrane biologique contient des protéines. Une seconde caractéristique qui distingue une membrane biologique d'une membrane artificielle est la présence de très nombreuses molécules enchâssées.. Parmi ces nombreuses molécules, on retrouve des protéines. Elles ont notamment pour effet de modifier les propriétés physiques de la bicouche, sa perméabilité sélective, etc. La **figure 1.A.5** montre une illustration schématique qui représente une membrane biologique, où la bicouche est en jaune comme dans nos propres schémas et où les protéines membranaires sont illustrées en bleu pâle.

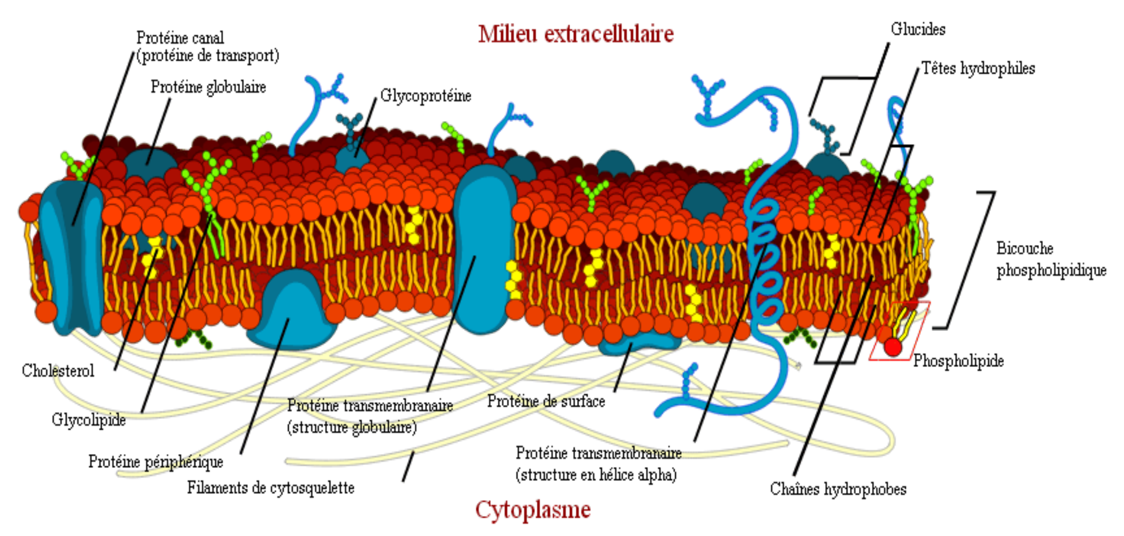


Figure 1.A.5 Une membrane biologique est une bicouche de phospholipides où de nombreuses molécules sont enchâssées, notamment des protéines. (Figure : Ruiz 2007)

Les protéines ne sont pas dispersées au hasard dans la membrane : certaines ne fonctionnement correctement que si elles sont associées à des radeaux lipidiques avec lesquelles elles se déplacent solidairement. Des protéines peuvent aussi être ancrées au cytosquelette cellulaire, ce qui limite leur mobilité et régule leur fonctionnement. Ces deux mécanismes affectent notamment des canaux tensiodépendants essentiels au fonctionnement de l'influx nerveux (Dart 2010 ; voir aussi le chapitre 3), dont il sera question ci-dessous. Nous verrons au chapitre 3 que la désorganisation des radeaux lipidiques a un effet sur ces protéines. Penchons-nous pour le moment sur les protéines en général.

1.A.5 Structure et fonction des protéines

En général, les protéines sont des macromolécules énormes, qui comportent des milliers d'atomes. Du fait de leur taille mais aussi de leur nombre, elles composent à elles seules

la majorité de la masse sèche d'une cellule, puisqu'on trouve des protéines aussi bien dans les membranes qu'en solution dans le cytosol. Nous allons maintenant présenter quelques propriétés des protéines et quelques classes de protéines qui seront pertinentes dans les travaux présentés dans les chapitres 3 et 4. Suivra ensuite un aperçu de la façon dont elles peuvent jouer leur rôle de machine moléculaire, un exposé sur leur structure et un passage sur le rythme auquel certaines protéines catalysent des réactions chimiques.

Captivité des protéines. Si elles sont en solution dans le cytosol, les protéines sont, en raison de leur imposante taille, nécessairement tenues captives par la membrane plasmique. Quant aux protéines enchâssées dans une membrane, elles comportent deux parties hydrophiles, qui «dépassent» dans l'eau de chaque côté de la bicouche, de même qu'une partie hydrophobe, en contact avec les queues des phospholipides. Tant en raison de l'interaction hydrophobe qui affecte leur partie non polaire qu'en raison des ponts hydrogènes qui affectent leurs parties hydrophiles, elles sont incapables de quitter leur membrane donc elles aussi incapables de quitter la cellule.

Fonctions des protéines. En général, la cellule utilise les protéines pour de nombreuses fonctions. Trois catégories de fonctions en particulier sont pertinentes pour nos travaux : la catalyse, le transport et la structure (Campbell 2007, chap. 7).

Ainsi, premièrement, certaines protéines servent à accélérer sélectivement certaines réactions chimiques en se liant aux réactifs. On dit qu'elles les **catalysent**. Les protéines qui jouent un rôle de catalyseur sont appelées des **enzymes** et leur nom se termine par «ase». Les enzymes ne peuvent catalyser que des réactions qui sont déjà *spontanées*, c'est-à-dire celles qui font décroître l'énergie libre des réactifs ; toutefois, une classe d'enzymes, les ATPases, puisent de l'énergie libre en rompant une molécule d'**adénosine triphosphate (ATP)**[4], afin de catalyser des réactions qui ne sont pas spontanées. (Ce couplage de réactions spontanées et non spontanées est ce qui permet notamment à la cellule de synthétiser des molécules complexes à partir de molécules simples, d'ordonner les molécules de sa membrane plasmique, etc.)

Deuxièmement, la membrane plasmique contient aussi des **protéines de transport**. Certaines protéines de transport sont simplement des canaux ouverts en permanence, qui augmentent sélectivement la perméabilité de la membrane plasmique à certaines molécules, qui les traversent en diffusant. De tels canaux assurent notamment une petite perméabilité de la membrane aux principaux types d'ions (Goldstein 2001, Tremblay 2011 ; voir aussi Hille 2001) ; on les appelle alors des **canaux de fuite**. Un tel canal est illustré à la figure 1.A.5. D'autres canaux peuvent s'ouvrir ou se fermer en réaction à divers stimuli, notamment les **canaux tensiodépendants** (ceux qui s'ouvrent en réponse à un changement de tension électrique ; voir section 1.B) à Na^+ et à K^+ (respectivement, **canaux Na_V** et **canaux K_V**) jouent un rôle clé dans la propagation de l'influx nerveux. Enfin, les **pompes ioniques** sont des protéines de transport qui déplacent des ions en sens inverse de leur diffusion normale

[4] L'ATP est la «monnaie énergétique» de la cellule ; son hydrolyse produit de l'ADP et un phosphate inorganique (P_i). Après la digestion des aliments, la *grande majorité* des molécules que nous en tirons sont oxydées en CO_2 afin de permettre de synthétiser constamment des molécules d'ATP. Ces dernières fournissent ensuite l'énergie nécessaire à des procédés non spontanés (ici, le pompage). La synthèse d'ATP à partir des produits de la digestion a lieu dans toutes les cellules et se nomme **respiration cellulaire**. (Les autres molécules issues des aliments servent de matière première à la synthèse de nouveaux tissus, une fonction très minoritaire.)

(*ie*. les concentrent) et consomment donc de l'énergie à cette fin. En particulier, la «pompe Na/K» joue un rôle important dans l'influx nerveux (voir les sections 1.B et 1.C) et est *à la fois* une protéine de transport *et* un enzyme, puisqu'elle se procure l'énergie nécessaire à son action de pompage en catalysant l'hydrolyse de l'ATP.

Troisièmement, la cellule utilise des **protéines de structure** pour former son *cytosquelette*, ce qui lui permet de conserver sa forme ou même, dans le cas des cellules mobiles comme les globules blancs ou les organismes unicellulaires, de modifier cette forme. Les microtubules (qui résistent à la compression), les filaments d'actine grossièrement schématisés sur la figure 1.A.1 (qui résistent à la tension), de même que des filaments intermédiaires de diverses natures, sont les principaux constituants du cytosquelette. Des filaments d'actine sont aussi représentés, en gris, à la figure 1.A.5 (contrairement aux autres protéines sur cette figure, ils ne sont pas colorés car il ne font pas partie de la membrane plasmique). Cependant, il y a une composante du cytosquelette qui est plus pertinente pour nos travaux : une bicouche étant fluide, une cellule peut accroître la rigidité de sa membrane plasmique grâce à des fibres de **spectrine**, qui s'attachent aux filaments d'actine de façon à tisser une véritable structure sous-membranaire ayant l'apparence d'un filet, le **cortex d'actine-spectrine**. Plusieurs protéines enchâssés dans la membrane plasmique sont pourvues d'un site actif leur permettant de s'attacher à ce cortex grâce à une protéine intermédiaire, l'**ankyrine**, ce qui limite leur mobilité et rigidifie la membrane. Nous verrons au chapitre 3 les dommages qui se produisent quand la membrane plasmique est arrachée à son cortex d'actine-spectrine, ce qui jouera un rôle important dans la base théorique de nos travaux.

Survol du fonctionnement d'une protéine. Pour pouvoir jouer son rôle de catalyse, de transport ou même de structure, chaque protéine doit adopter au moins une forme tridimensionnelle spécifique qu'on appelle une **conformation**. En général, cette conformation permet aux protéines d'avoir un ou plusieurs **sites actifs**, dont la forme géométrique épouse assez précisément celle d'une molécule pour pouvoir s'y lier *sans se lier aux autres*. Par exemple, un enzyme doit se lier sélectivement aux molécules de réactifs dont elle catalyse une réaction ; des protéines de structure comme l'actine doivent avoir une forme leur permettant de se lier les unes aux autres pour former un filament, etc. (Campbell 2007, chap. 5, 8 ; Nelson 2008, chap. 7). La **figure 1.A.6** illustre la conformation et le site actif d'un enzyme simple, l'hexokinase, avec et sans substrat lié. (Notez que la forme de la protéine, tout comme celle du substrat, changent toutes les deux légèrement quand la liaison a lieu ; cette déformation du substrat en modifie les niveaux d'énergie et rend plus facile de le faire réagir ; c'est un des mécanismes de la catalyse.)

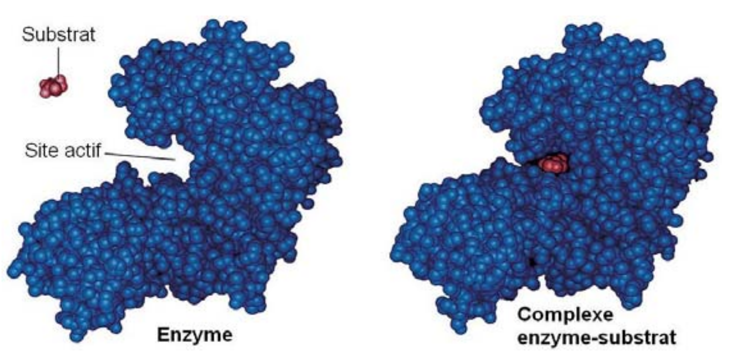


Figure 1.A.6 Le substrat se lie à l'enzyme à un *site actif*. Pour rendre cela possible, la protéine doit avoir une forme tridimensionnelle précise, sa conformation. (Campbell 2007)

De nombreuses protéines ne sauraient jouer leur rôle sans pouvoir adopter *plusieurs* conformations fonctionnelles différentes. Par exemple, un canal tensiodépendant doit

posséder au moins une conformation «ouverte» et au moins une conformation «fermée». En pratique, de telles protéines possèdent souvent des populations entières de conformations «ouvertes» et «fermées» et il faut donc tenir compte, si on souhaite construire un modèle décrivant leur probabilité d'ouverture, non seulement des niveaux d'énergie mais aussi de l'entropie de chaque population (Nelson 2008, chap. 6).

La pompe Na/K, quant à elle, est une protéine qui possède à la fois plusieurs sites actifs et plusieurs conformations. En effet, elle doit posséder un site lui permettant de lier l'ATP (et de catalyser sa rupture), mais aussi des sites actifs permettant de lier les ions spécifiques qu'elle pompe au travers de la membrane plasmique. De même, elle doit pouvoir changer de conformation pour lier les ions d'un côté de la membrane mais les libérer de l'autre côté de la membrane plasmique, ce qui correspond à sa fonction de transport. Nous verrons à la section 1.B que c'est le fait même de lier une molécule à un site actif qui entraîne dans cette protéine une séquence de changements de conformations (Läuger 1991, chap. 2, 8), un peu à l'image de l'unique changement illustré à la figure 1.A.6.

Les conformations d'une protéine sont relativement stables dans une cellule mais sont sensibles à des changements importants des propriétés de leur environnement. Par exemple, des changements brutaux de température ou de pH peuvent déformer complètement une protéine. On dit alors qu'elle est *dénaturée*. Ce processus peut être réversible, à la condition que la protéine dénaturée demeure en solution et que les conditions lui permettant de reprendre sa forme soient restaurées. Il est possible, cependant, que la dénaturation soit irréversible. Par exemple, la cuisson d'un blanc d'oeuf dénature l'albumine, qui compose la majorité de sa masse sèche, ce qui le fait coaguler ; refroidir le blanc d'oeuf ne restaure évidemment pas sa forme initiale.

Une question qui demeure est donc de savoir comment une protéine peut adopter une forme tridimensionnelle si précise, tout en lui permettant de pouvoir changer, dans certains cas, au gré de stimuli externes. Nous allons donc terminer notre exposé sur les protéines en survolant les quatre niveaux de structure d'une protéine (Campbell 2007, chap. 5), en précisant chaque fois les mécanismes physiques qui lui permettent d'adopter sa conformation (Nelson 2008, chap. 7, 9).

Structure primaire des protéines. Pour fabriquer une protéine, la cellule commence par synthétiser un **polypeptide** (polymère d'acides aminés), c'est-à-dire un assemblage, sous forme d'une longue chaîne linéaire, de petites molécules similaires (les **acides aminés**) mises bout à bout. Chaque acide aminé comporte un atome central de carbone auquel est fixé 1) un groupement acide $-COOH$; 2) un groupement amine $-NH_2$; 3) un atome d'hydrogène $-H$; 4) une chaîne latérale, symbolisée par $-R$ et laquelle identifie l'acide aminé. La formule générale d'un acide aminé est donc $NH_2-CHR-COOH$ (voir figure 1.A.7). Pour synthétiser leurs protéines, les animaux n'utilisent qu'une vingtaine d'acides aminés différents (ils diffèrent par leur chaîne latérale) mais se servent évidemment de plusieurs molécules de chacune d'entre elles.

La séquence avec laquelle les acides aminés sont agencés forme la **structure primaire** de la future protéine. Soulignons que le terme «protéine» désigne habituellement un polypeptide ayant adopté sa conformation, alors que le terme «polypeptide» désigne la

seule structure primaire. L'information sur la séquence d'acides aminés à utiliser pour constituer la structure primaire est contenue dans un gène du bagage génétique. En fait, c'est le seul niveau de structure qui est directement codé dans l'ADN. Cette information est utilisée par les **ribosomes**, des organites spécialisés dans la synthèse des protéines à partir de l'information génétique[5].

Pour joindre ensemble les acides aminés et former le polypeptide, un ribosome catalyse une réaction chimique qui fusionne le groupement –COOH d'un acide aminé avec le groupement NH_2 de l'acide aminé suivant : cette réaction retire une molécule H_2O et forme un nouveau lien covalent, le **lien peptidique**, entre les atomes N et C de ces deux groupements. La **figure 1.A.7** illustre ce procédé dans le cas d'un (court) polypeptide qu'on fait passer de deux à trois acides aminés. Selon les protéines, un polypeptide peut être formé de la juxtaposition d'une centaine d'acides aminés ou de plusieurs milliers d'entre eux. Le polypeptide a donc la forme répétitive $-CHR_1-CO-NH-CHR_2-CO-NH-CHR_3-$, où les R_i désignent des chaînes latérales qui sont, en général, différentes. Comme le montre la figure 1.A.7, cette chaîne peut être vue comme un «squelette» formé d'une succession, toujours identique, de trois paires d'atomes (NH, CH et CO), squelette auquel se greffent les chaînes latérales, une à chaque «CH».

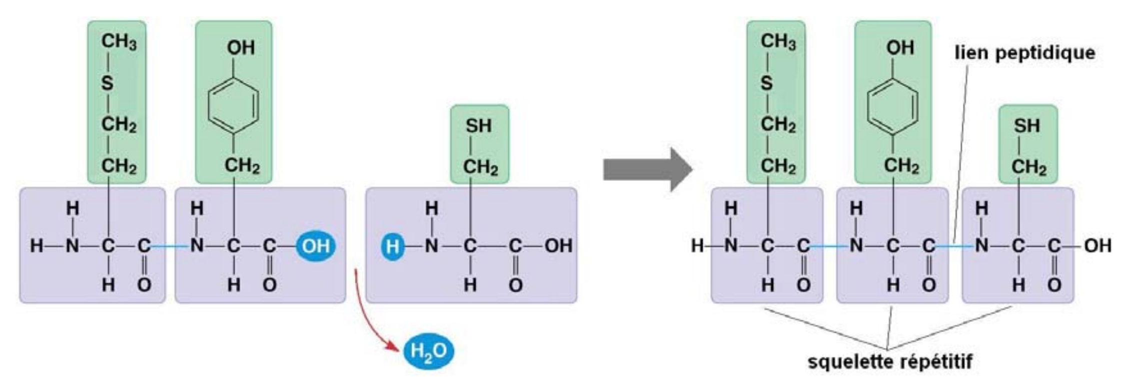


Figure 1.A.7 Quand des acides aminés sont regroupés pour former un polypeptide, ce dernier comporte un squelette répétitif (en gris, à droite) auquel sont greffées des chaînes latérales (en vert). (Figure adaptée de Campbell 2007)

Structure secondaire des protéines. Deux polypeptides diffèrent par la nature des chaînes latérales des acides aminés qui les composent, mais comportent nécessairement le *même squelette*. Or, deux des trois groupements qui composent ce squelette (NH et CO) sont polaires et forment donc des ponts hydrogène avec les omniprésentes molécules d'eau. Cependant, des groupements NH et CO situés à quelques acides aminés d'intervalle l'un de l'autre peuvent former des ponts hydrogène *entre eux* plutôt qu'avec les molécules d'eau. La croissance de l'entropie (surtout celle des molécules d'eau) favorisera statistiquement une situation plutôt que l'autre (notamment selon la température ambiante).

[5] Un gène est un segment d'une molécule d'ADN. Sauf quelques exceptions, il existe une correspondance «un gène, un polypeptide». Quand la cellule reçoit le stimulus qui la pousse à synthétiser le polypeptide qui correspond un gène, c'est-à-dire à exprimer ce gène, elle repère le début du gène, qui est toujours marqué par la même succession de trois monomères, en fait une copie, puis dirige cette copie vers un **ribosome**, un organite spécialisé dans la synthèse de protéines. Dans le gène, chaque acide aminé est codé par un bloc de trois monomères appelé **codon**. Le ribosome «lit» donc chaque codon et y fait correspondre un acide aminé qu'il ajoute au polypeptide en cours de synthèse.

Il existe deux situations particulières, illustrées à la **figure 1.A.8**, qui permettent la formation d'un *grand nombre* de ponts hydrogène entre des groupements NH et CO du squelette du polypeptide plutôt qu'avec les molécules d'eau. Dans ces deux cas, il y a une transition nette, à une température donnée, où tous les groupements d'une longue portion du squelette remplacent presque simultanément leurs ponts hydrogène avec l'eau par des ponts hydrogène entre eux. Sous la température critique, la statistique favorise de façon écrasante les liens avec l'eau ; au dessus, elle favorise de façon écrasante les liens internes. Quand la température croît au-delà de la valeur critique, on assiste à une cascade de formation de ponts hydrogène internes, à la façon d'une chaîne de dominos.

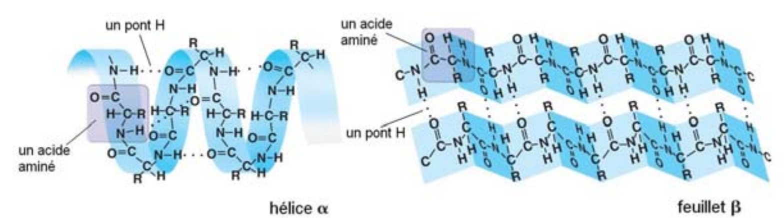


Figure 1.A.8 La structure secondaire est un agencement répétitif dû à des ponts hydrogène entre les atomes qui composent le squelette du polypeptide. (Figure : banque ERPI)

Dans la première des deux configurations illustrées à la figure 1.A.8, qu'on appelle une **hélice α**, *chaque* groupement NH forme un pont hydrogène avec le groupement CO situé à un intervalle de quatre acides aminés. Ces nombreux ponts hydrogène contraignent le squelette du polypeptide à conserver une forme hélicoïdale qui donne son nom à la structure obtenue. Dans une seconde configuration, qu'on appelle **feuillet β**, ou feuillet plissé β, le squelette forme un coude à 180° plus ou moins serré (non illustré) de façon à ce que deux tronçons antiparallèles en soient placés côte à côte. Dans cette configuration, chaque groupement NH ou CO d'un tronçon forme un pont hydrogène avec les groupements CO ou NH, respectivement, de l'autre tronçon. Certains polypeptides peuvent se replier de façon à aligner plusieurs tronçons, antiparallèles deux à deux, tous côte à côte, où chaque tronçon forme des ponts hydrogènes avec les tronçons situés de chaque côté. Il y a trois tronçons dans le cas illustré à la figure 1.A.8. Les nombreux ponts hydrogène contraignent les tronçons (deux ou davantage) à rester rectilignes, côte à côte dans un même plan, formant un «feuillet» qui donne son nom à cette structure. Un feuillet β peut aussi se former entre deux ou plusieurs tronçons parallèles du polypeptide, plutôt qu'entre des tronçons antiparallèles.

Selon sa composition (certains acides aminés permettent plus facilement que d'autres au squelette de faire un coude à 180° serré, par exemple) et selon l'environnement, en particulier la température, un polypeptide donné peut adopter *spontanément* une configuration où les groupements CO et NH de son squelette formeront des ponts hydrogène entre eux. Les patterns *réguliers* dus à des ponts hydrogène *dans le squelette* du polypeptide sont désignés comme sa **structure secondaire**. C'est le premier pas vers la forme tridimensionnelle complète de la protéine.

Les trois protéines qui jouent un rôle central dans nos travaux, c'est-à-dire les pompes Na/K, les canaux Na_V et les canaux K_V ont toutes trois une structure secondaire qui comporte de nombreuses hélices α (voir la section 1.C). En particulier, la portion qui traverse la membrane en est faite presque exclusivement, ce qui lui confère une grande stabilité : les ponts hydrogène de ces hélices sont difficiles à briser, ne pouvant être remplacés, dans le milieu hydrophobe de la membrane, par des liens avec l'eau. Plusieurs hélices α jouent aussi un

rôle dans la fonction de la protéine, par exemple en fournissant des sites de liaison ou en devenant des senseurs de tension, comme nous le verrons à la section 1.C.

Structure tertiaire des protéines. Les acides aminés utilisés pour synthétiser le polypeptide ont des propriétés différentes, déterminées par leur chaîne latérale. Certains portent une chaîne latérale basique ou acide qui se dissocie au pH ambiant et devient chargée. D'autres, même s'ils restent électriquement neutres, portent une chaîne latérale polaire. Ceux qui restent portent une chaîne latérale non polaire. Ces différentes propriétés font en sorte que les acides aminés se placent géométriquement d'une certaine façon et même que chacun des atomes qui les compose adopte une position précise dans l'espace. Ajoutons que la structure secondaire joue un rôle déterminant : en fonction des chaînes latérales qu'elles comportent, les hélices α et les feuillets β ont eux aussi tendance à interagir entre eux comme des touts et à s'agglomérer selon certaines orientations.

On appelle **structure tertiaire** la structure tridimensionnelle d'un polypeptide, causée surtout par les interactions entre les chaînes latérales et définie par la position de chacun de ses atomes dans l'espace. Il y a plusieurs façons l'illustrer cette structure : les **représentations en ruban** mettent l'accent sur les positions relatives des hélices α, des feuillets β et des autres portions du polypeptide *en illustrant seulement la position dans l'espace occupée par le squelette du polypeptide*. On peut aussi utiliser la **représentation en boules et bâtons**, comme à la figure 1.A.6, qui présente l'avantage d'illustrer chaque atome. Un logiciel comme **RasMol** permet de visualiser une même protéine en utilisant une diversité de représentations visuelles. Notons que, sur la figure 1.A.8, la représentation en ruban, en bleu, est superposée à la représentation des atomes.

De nombreuses interactions entre acides aminés favorisent leur positionnement dans l'espace, soit l'établissement de la structure tertiaire, et ces interactions peuvent impliquer des chaînes latérales qui ne sont *pas forcément voisines entre elles* sur le polypeptide. Il y a d'abord, évidemment, les interactions électrostatiques entre les chaînes latérales chargées ou les ponts hydrogène entre les chaînes latérales polaires. Ensuite, la cellule peut catalyser la formation d'un lien covalent entre deux chaînes latérales de cystéine, un des 20 acides aminés. Un tel lien, appelé **pont disulfure**, stabilise significativement la position relative des chaînes latérales. Enfin, soulignons que les chaînes non polaires ont tendance à se regrouper en amas de façon à minimiser leur interaction avec les molécules d'eau, avec lesquelles elles ne peuvent former de ponts hydrogène. Ainsi, bien qu'elles n'exercent aucune force l'une sur l'autre, les chaînes latérales non polaires semblent s'attirer grâce à l'interaction hydrophobe. Enfin, les chaînes latérales non polaires situées à proximité l'une de l'autre peuvent interagir grâce aux forces de Van der Walls.

Il importe de rappeler que la plupart des polypeptides adoptent leurs conformations secondaire et tertiaire de façon *spontanée*. Comme nous l'avons déjà souligné, si on dénature la configuration d'une protéine en l'exposant à une température élevé ou à un pH qui modifie les charges portées par ses chaîne latérales, on peut ensuite inverser le processus en restituant les caractéristiques du milieu original, dans la mesure où le polypeptide dénaturé n'a pas précipité ou ne s'est pas scindé. En milieu cellulaire, toutefois, plusieurs polypeptides doivent interagir avec d'autres protéines pour adopter correctement leur conformation tridimensionnelle.

Structure quaternaire des protéines. Bien que ce ne soit pas toujours le cas, certains polypeptides ayant acquis leur structure tertiaire doivent s'assembler entre eux pour constituer une protéine. On dit qu'une telle protéine est constituée de l'assemblage de quelques **sous-unités protéiques**. Ces dernières peuvent être identiques (par exemple, l'hémoglobine est une protéine formée de quatre sous-unités identiques) ou différentes (par exemple, l'insuline est formée de deux sous-unités différentes). La **figure 1.A.9** montre cette **structure quaternaire** d'une protéine et la met en relation avec ses trois autres niveaux de structure.

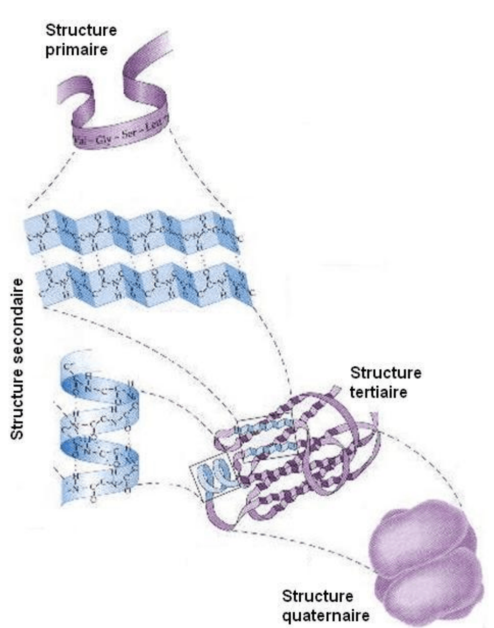


Figure 1.A.9 La structure quaternaire complète les quatre niveaux de structure d'une protéine. (Figure : banque ERPI)

Certaines protéines, formées d'une ou plusieurs sous-unités, comportent aussi un groupement non polypeptidique, par exemple un glucide ou un ion, qui leur est ajouté. C'est le cas de l'hémoglobine, qui doit comporter un groupement appelé «hème» pour être en mesure de jouer son rôle biologique, lier l'oxygène. C'est le cas aussi de la pompe Na/K, qui comporte de très nombreux glucides sur sa face extracellulaire.

Les trois protéines qui jouent un rôle central dans nos travaux, c'est-à-dire les pompes Na/K, les canaux Na_V (tensiodépendants à $Na^{+)}$ et les canaux K_V (tensiodépendants à K^+) ont toutes trois une structure quaternaire : les deux premières sont formées de deux sous-unités différentes et la troisième est assemblées à partir de quatre sous-unités identiques.

1.A.6 Le modèle Michaelis-Menten pour la cinétique enzymatique

Maintenant que nous avons étudié en détail la structure d'une protéine, tous les outils de base pertinents au sujet de la biologie cellulaire en général sont introduits. Avant de terminer la section 1.A, il ne nous reste plus qu'à introduire un outil biochimique quantitatif, un modèle permettant de décrire le *taux* auquel une protéine enzymatique catalyse une réaction chimique. Au chapitre 3, ce modèle s'avérera important pour décrire le courant électrique causé par l'action des pompes Na/K. Pour l'obtenir, nous suivons essentiellement le raisonnement présenté dans Nelson 2008 (section 10.4.1). Il importe toutefois de souligner que Nelson fonde le résultat obtenu sur plusieurs hypothèses dont plusieurs ne sont pas formellement nécessaires, malgré leur intérêt pédagogique.

Pour le moment, considérons une réaction chimique simple, comme celle illustrée à la figure 1.A.6, où un substrat **S** se lie à un enzyme, **E**. Il a ensuite une certaine probabilité de se dissocier, mais s'il reste lié à l'enzyme jusqu'au moment où les collision thermiques fournissent l'énergie requise, ce dernier en réorganise les atomes afin de le transformer en un produit **P**, qui est ensuite libéré de l'enzyme, ce qui permet au processus de recommencer :

$$\mathbf{E} + \mathbf{S} \rightleftharpoons \mathbf{ES} \rightleftharpoons \mathbf{EP} \rightleftharpoons \mathbf{E} + \mathbf{P} \qquad \text{(équation 1.A.1)}$$

Nous cherchons à prédire le taux auquel l'enzyme permet la synthèse du produit **P**. Pour l'obtenir, il importe de distinguer les concentrations d'enzyme dans l'état libre ou lié, que nous noterons respectivement c_E et c_{ES}, de la concentration totale d'enzyme, $[E] = c_E + c_{ES}$.

Nous allons maintenant faire la seule hypothèse qui est réellement requise pour obtenir le modèle cinétique que nous recherchons : dans la plupart des réactions enzymatiques, la dernière des trois étapes peut être *considérée comme irréversible*. En d'autres termes, la réaction $\mathbf{EP} \rightarrow \mathbf{E} + \mathbf{P}$ est extrêmement plus probable que la réaction $\mathbf{EP} \leftarrow \mathbf{E} + \mathbf{P}$, ce qui permet d'ignorer complètement cette dernière. Cette hypothèse est valable, par exemple, quand le produit **P** de la réaction est immédiatement consommé par la cellule. Elle est clairement valable, aussi, dans le cas de l'enzyme qui nous intéresse, soit la pompe Na/K : comme nous le verrons à la section 1.C, quand elle libère des ions d'un côté de la membrane, la pompe change de conformation, ce qui fait que les sites actifs où se lient ce type d'ion cessent rapidement d'être disponibles de ce côté de la membrane.

Dans tout enzyme, la dissociation $\mathbf{EP} \rightarrow \mathbf{E} + \mathbf{P}$ est très rapide en comparaison du passage $\mathbf{ES} \rightarrow \mathbf{EP}$, qui requiert une certaine attente où les collisions thermiques doivent fournir l'énergie permettant à la réaction d'avoir lieu. Par conséquent, il n'est pas nécessaire de distinguer les états **EP** et **E + P** et on peut considérer qu'il y a un passage direct entre l'état **ES** et l'état **E + P**. Ainsi, et en tenant compte aussi de l'hypothèse que nous avons formulée, l'équation 1.A.1 devient :

$$\mathbf{E} + \mathbf{S} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} \mathbf{ES} \overset{k_2}{\rightarrow} \mathbf{E} + \mathbf{P} \qquad \text{(équation 1.A.2)}$$

où nous avons ajouté les constantes cinétiques k_1, k_{-1} et k_2 qui caractérisent le taux des trois étapes élémentaires. En général, chacune de ces étapes a un taux proportionnel à la concentration de ses réactifs, la constante de proportionnalité étant la constante k_i correspondante. Ce que nous recherchons est la **vitesse de réaction**, c'est-à-dire le taux auquel le produit est créé, qui est donc $k_2 c_{ES}$, où c_{ES} est la concentration des molécules d'enzymes qui sont dans l'état lié.

On peut exprimer c_{ES} en fonction des trois constantes cinétiques et de la concentration [S] du substrat. Pour ce faire, il suffit de réaliser que c_{ES} croît au taux $k_1 c_E[S]$ quand la réaction $\mathbf{E} + \mathbf{S} \rightarrow \mathbf{EP}$ se produit, décroît au taux $k_{-1} c_{ES}$ quand la réaction inverse se produit et décroît aussi, au taux $k_2 c_{ES}$, quand la réaction $\mathbf{ES} \rightarrow \mathbf{E} + \mathbf{P}$ se produit. On a donc :

$$\tfrac{d}{dt} c_{ES} = k_1 c_E [S] - (k_{-1} + k_2) c_{ES} \qquad \text{(équation 1.A.3)}$$

On peut simplifier le membre de droite en y substituant $c_E = [E] - c_{ES}$, d'où :

$$\tfrac{d}{dt} c_{ES} = k_1 [E][S] - (k_1 [S] + k_{-1} + k_2) c_{ES} \qquad \text{(équation 1.A.4)}$$

Quand une concentration [E] d'enzyme est ajoutée à une solution qui contient le substrat, c_{ES} est initialement nul, mais tend rapidement vers une valeur stationnaire. Le taux de synthèse du produit devient donc lui aussi stationnaire. Puisque c_{ES} ne varie plus, le membre de gauche de l'équation 1.A.4 devient alors nul. En isolant alors c_{ES} dans l'équation 1.A.4, on obtient :

$$c_{ES} = \frac{k_1[E][S]}{k_1[S] + k_{-1} + k_2} = [E]\frac{[S]}{\frac{k_{-1}+k_2}{k_1} + [S]}$$ (équation 1.A.5)

La vitesse de réaction $v = k_2 c_{ES}$ est donc :

$$v = k_2[E]\frac{[S]}{\frac{k_{-1}+k_2}{k_1} + [S]}$$ (équation 1.A.6)

Selon cette équation, le rythme de la réaction augmente proportionnellement à la concentration [E], ce qui est effectivement le comportement attendu quand l'enzyme est suffisamment dilué.

En général, il est difficile de mesurer directement les constantes k_1, k_{-1} et k_2, puisque les trois réactions qui figurent dans l'équation 1.A.2 se produisent simultanément. On définit donc les constantes $v_{max} = k_2[E]$ et $K_M = (k_{-1} + k_2)/k_1$. Ces constantes peuvent être considérées comme des paramètres tirés directement (et facilement) de l'expérience. Avec cette nouvelle notation, l'équation 1.A.6 devient enfin :

<u>**Modèle Michaelis-Menten**</u>

$$v = v_{max}\frac{[S]}{K_M + [S]}$$ (équation 1.A.7)

Selon cette équation, la vitesse de la réaction est nulle quand [S] = 0, ce qui est évidemment logique, et tend vers v_{max} quand la concentration de substrat est extrêmement élevée. Dans ce dernier cas, on dit que *l'enzyme est saturé*. Comme le montre la **figure 1.A.10**, il faut une concentration importante (en proportion de K_M) pour saturer l'enzyme. La constante K_M a aussi une interprétation évidente : elle correspond à la concentration de substrat pour laquelle $v = v_{max}/2$, ce que montre aussi la figure.

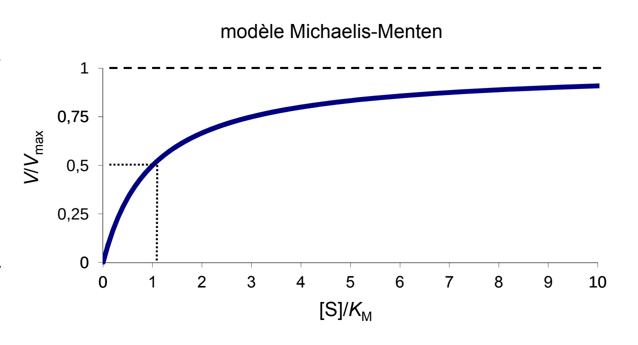


Figure 1.A.10 La concentration du substrat influence la vitesse d'une réaction enzymatique.

Notons qu'en obtenant expérimentalement un graphique comme celui de la figure 1.A.10, on peut déterminer facilement v_{max} et K_M. Cette tâche est encore plus facile si on trace le

graphique de $1/v$ en fonction de $1/[S]$, qui a la forme d'une droite dont l'ordonnée à l'origine est $1/v_{max}$ et la pente, K_M/v_{max}.

Guide de lecture 1.A

Nous terminons cette section avec quelques conseils de lecture. La majorité de cette section ayant été d'un niveau extrêmement introductif, nous privilégions ici des sources qui sont aussi d'un tel niveau. Les articles de recherche que nous avons cités n'en sont pas moins pertinents, mais ils répondent moins à un besoin d'introduction.

En plus des sources écrites, le lecteur avec ou sans bases en biologie aurait avantage, pour visualiser la structure de protéines, à installer le logiciel *RasMol* ou sa version *RasWin*, qui sont tous deux gratuits.

Le lecteur dont le niveau en biologie dépasse déjà celui de cette section 1.A aurait intérêt à consulter Hille 2001, l'une des références les plus reconnues au sujet des canaux ioniques et Läuger 1991 qui, malgré son âge, contient une foule d'information sur les pompes. De plus, nous traiterons plus spécifiquement des canaux et des pompes à la section 1.C. Le reste de ce guide de lecture s'adresse au lecteur qui a jugé nécessaire de lire cette section 1.A en raison de trop faibles bases en biologie.

Bien que le contenu biologique de la section qui se termine suffise à la lecture de la suite de cette thèse, nous recommandons fortement au lecteur dont l'intention serait d'entreprendre des travaux de recherche en biophysique de s'assurer au préalable une maîtrise de bases élémentaires en biologie. C'est une *première* étape essentielle. Pour ce faire, les premiers chapitres de Campbell 2007, un ouvrage introductif classique, sont un excellent point de départ : ils se lisent rapidement, ne nécessitent absolument aucun préalable et introduisent les fondements biochimiques de la biologie (chap. 2-5), les composantes de la cellule (chap. 6) et les membranes cellulaires (chap. 7). Le chapitre 48 porte plus spécifiquement sur les systèmes nerveux.

Marieb 2010 survole les mêmes notions dans ses chapitres 2-4 et est lui aussi disponible en français. Il a toutefois la saveur particulière d'être un ouvrage introductif axé sur la physiologie de l'être humain et non sur l'étude de l'entièreté du monde vivant.

Le lecteur qui préfère la langue de Shakespeare peut plutôt consulter les éditions originales de Campbell et Marieb, ou encore Lodish 2000 et y trouver un contenu équivalent.

Le physicien qui s'y connaît minimalement en biologie mais pas forcément en biophysique aurait intérêt à consulter Nelson 2008, qui documente les aspects physiques de la biologie moléculaire. Ce manuel introduit à partir d'un niveau intermédiaire toutes les notions de physique, et en particulier de mécanique statistique, qui sont essentielles à son exposé. Le lecteur aura donc droit à une révision de thermo-statistique, appliquée dans un contexte de biologie moléculaire (chap. 6-7). On y traite notamment de thèmes que nous avons abordés, comme l'assemblage spontané des membranes cellulaires ou l'apparition spontanée de la structure secondaire des protéines (chap. 8-9).

En fait, tous les thèmes abordés par Nelson, même ceux que nous avons choisi de ne pas

couvrir dans cette section 1.A, sont pertinents pour qui souhaite développer une intuition générale au sujet des phénomènes physiques qui se déroulent à l'échelle moléculaire dans la cellule. On y traite de diffusion (chap. 3-4), de l'imposante viscosité qui domine tout mouvement à l'échelle cellulaire (chap. 5), de divers phénomènes osmotiques et des interactions moléculaires qui en découlent (chap. 7), etc.

1.B) Électrophysiologie

Dans cette seconde section, nous aborderons les phénomènes électriques qui se produisent dans les cellules, en insistant sur ce qui est pertinent pour comprendre le fonctionnement de l'influx nerveux. Pour faciliter la lecture, nous organisons le texte en trois parties. Tout d'abord, la sous-section 1.B1 fera un survol expérimental général au sujet du potentiel de membrane. Les deux autres sous-sections expliquent les mécanismes physiologiques derrière ces phénomènes, en ayant recours à des cas de complexité croissante, la sous-section 1.B2 s'attardant aux membranes non excitables et la suivante, aux membranes excitables. Le texte est structuré de telle façon que chacun des concepts introduits dans une des sous-sections demeure valide dans les sous-sections suivantes.

1.B1) Potentiel de repos et potentiel d'action : les observations-clé

Dans cette première sous-section, nous abordons surtout les observations élémentaires au sujet des phénomènes électriques dans les cellules. Ce contexte nous permettra de définir la distinction entre les cellules non excitables et les cellules excitables. Nous introduirons d'abord le concept de potentiel de membrane, puis verrons ensuite que ce dernier a un comportement plutôt simple dans les cellules non excitables, mais nettement plus élaboré dans les cellules excitables. Il est notamment responsable de la propagation de l'influx nerveux dans les neurones, qui appartiennent à cette dernière catégorie de cellules. Nous conclurons en interprétant le potentiel de membrane en termes de champ électrique et de charge électrique nette accumulée de part et d'autre de la membrane.

1.B1.1 Le potentiel de membrane

Comprendre le fonctionnement de l'influx nerveux requiert tout d'abord de maîtriser les propriétés d'un neurone au repos, qui correspondent essentiellement aux propriétés d'une cellule non excitable. La première de ces propriétés : dans *toutes* les cellules animales, on mesure une différence de potentiel électrique $\Delta V = V_{int} - V_{ext}$ entre les côtés interne et externe de la membrane plasmique. Dans les cellules non excitables, de même que dans les cellules excitables au repos, cette tension électrique est typiquement entre −60 mV et −80 mV. (Comme d'autres grandeurs cellulaires, elle manifeste une variabilité.)

L'existence de cette différence de potentiel a historiquement été déduite par des méthodes indirectes, mais nous pouvons aujourd'hui la mesurer directement : l'enregistrement de cette tension électrique se fait en insérant, au travers de la membrane plasmique, une électrode intracellulaire[6], en mettant une seconde électrode en contact avec le milieu extracellulaire, puis en mesurant la différence de potentiel entre les deux (Weckström 2010).

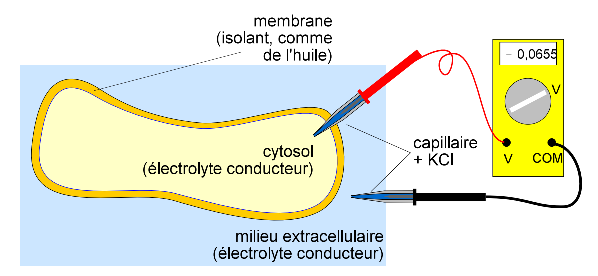


Figure 1.B1.1 Dans toute cellule animale, on mesure une différence de potentiel entre les côtés interne et externe de la membrane plasmique.

La **figure 1.B1.1** représente une telle démarche avec un équipement de mesure naïf, que nous utilisons à des fins illustratives. En raison des étages d'amplification utilisés dans un

[6] Tel qu'évoqué à la figure 1.B1.1, on utilise typiquement un tube capillaire pointu, rempli d'un électrolyte (ex : une solution concentrée de KCl) et dans laquelle on insère une électrode. Une autre possibilité est d'utiliser la méthode du «cell attached patch clamp» (voir sous-section 1.B3). Il existe aussi des méthodes alternatives comme les teintures sensibles au voltage (Läuger 1991, chap. 5)

équipement réel, le milieu extracellulaire est souvent considéré comme mis à la terre, donc on choisit son potentiel comme $V_{ext} \equiv 0$. Ainsi, par convention, $\Delta V = V_{int}$. Pour cette raison, on peut référer à cette dernière grandeur en l'appelant indifféremment différence de potentiel de membrane, ΔV, ou **potentiel de membrane, V**. Nous privilégierons la seconde appellation. Notez qu'à des fins de simplicité de la notation, nous abandonnons l'indice «int» et identifierons le potentiel de membrane par le symbole V.

1.B1.2 Réactions du potentiel de membrane à une perturbation

En utilisant diverses méthodes, on peut perturber localement le potentiel de membrane d'une cellule. Par exemple, en se servant d'une électrode du même genre que celles schématisées à la figure 1.B1.1, on peut injecter une petite quantité de charge électrique à l'intérieur de la cellule, ce qui conduit à une augmentation locale de V, qui devient donc moins négatif. On dit que la membrane est **dépolarisée**. Au lieu d'injecter une charge, on peut aussi en retirer ; on assiste alors à une diminution locale de V, qui devient donc plus négatif[7]. On dit que la membrane est **hyperpolarisée**. Quelle que soit la cellule, on mesure alors que, en réaction à une dépolarisation ou à une hyperpolarisation, *un courant électrique net traverse localement la membrane*. (La sous-section 1.B2 développera les équations permettant de calculer ce courant, alors que la sous-section 1.B3 présentera les méthodes de mesure pour les systèmes les plus complexes.)

Évidemment, un courant électrique traversant la membrane a nécessairement lui aussi un effet sur V. Nous utiliserons le symbole V_0 pour désigner le **potentiel de repos**, c'est-à-dire le potentiel non perturbé, et le distinguer du potentiel de membrane V qui est, en général, une *fonction de la position et du temps*. Dans le modèle numérique que nous présenterons au chapitre 3, la valeur utilisée pour le potentiel de repos est de −65,5 mV. C'est d'ailleurs la valeur que nous avons illustrée sur la figure 1.B1.1.

Cellules non excitables. Dans une cellule non excitable, la perturbation de V en un point (celui où la mesure est effectuée) s'estompe asymptotiquement jusqu'à ce que V revienne à sa valeur de repos (Nelson 2008, chap. 11-12). Une telle décroissance essentiellement exponentielle est un comportement **linéaire** : en effet, le courant qui traverse la membrane est *proportionnel* à l'écart $\delta = V - V_0$. Si on désigne par k la constante de proportionnalité, on a alors effectivement $d\delta/dt = -k\delta$ donc $\delta = \delta_0 e^{-kt}$. Une membrane qui est traversée par un courant proportionnel à la perturbation δ de sa tension est aussi dite *quasi-ohmique* (par analogie avec un véritable courant ohmique qui, lui, serait proportionnel à V).

Dans une membrane linéaire, on peut s'attendre à ce que la taille d'une perturbation soit fonction du stimulus, c'est-à-dire que sa taille augmente quand celle du stimulus augmente. Une telle réponse est dite un **potentiel gradué**.

Cellules excitables. Dans les cellules non excitables, les phénomènes électriques demeurent donc locaux. Ainsi, le potentiel de membrane de ces cellules demeure

[7] Quand il est question de nombres négatifs, les mots «augmenter» ou «diminuer» peuvent porter à confusion, selon qu'on désigne la valeur absolue ou qu'on tient compte du signe. Dans l'entièreté de cette thèse, nous tenons compte du signe. En d'autres termes, «augmenter» signifie «devenir moins négatif» et non «accroître la valeur absolue». Ce choix permet plus facilement de décrire un graphique, où «augmenter» désignera toujours une pente positive, que la courbe soit au dessus ou en dessous de l'axe des abscisses.

relativement uniforme dans l'espace et constant dans le temps[8]. Il en va autrement dans les **cellules excitables** : ce qui définit ces dernières est leur capacité à répondre d'une façon *non linéaire* à la perturbation de *V* (Nelson 2008, chap. 12).

Ainsi, la réponse d'un neurone est caractérisée par l'existence d'un **seuil d'excitation**, dont la valeur est typiquement situé entre −50 mV et −35 mV. Quand on perturbe le potentiel de membrane d'un neurone au repos, il existe deux catégories de réponses possibles, le *potentiel gradué* et le *potentiel d'action*, respectivement produites selon que la perturbation amène la valeur de *V* au dessus du seuil d'excitation du neurone ou non.

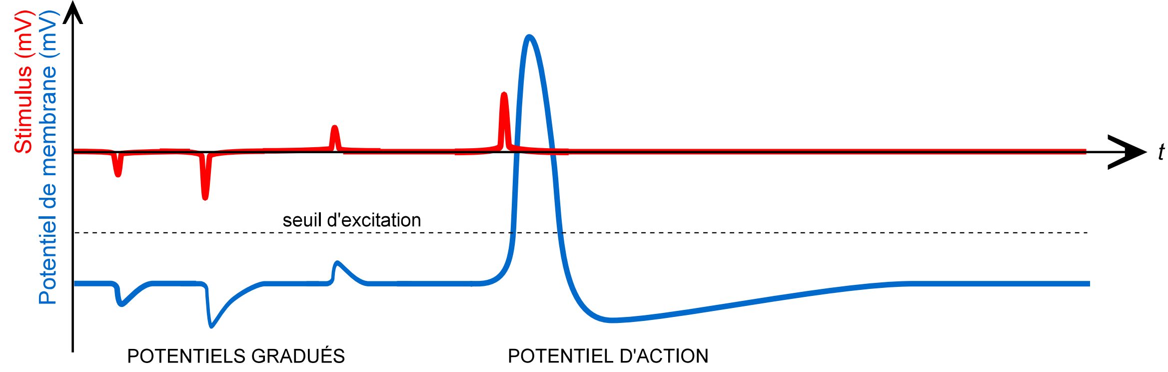


Figure 1.B1.2 Quand le stimulus fait monter le potentiel de membrane au dessus du seuil d'excitation, un potentiel d'action est enclenché ; sinon, on obtient un potentiel gradué.

La **figure 1.B1.2** compare ces deux types de réponses en présentant les courbes *V*(*t*) mesurées en un unique endroit de la membrane. Ainsi, les stimulus hyperpolarisants ou les stimulus dépolarisants trop faibles causent un potentiel gradué, exactement comme dans les cellules non excitables. Sous le seuil d'excitation, la membrane conserve donc approximativement son comportement linéaire. En outre, la réponse est fonction de l'intensité du stimulus. En revanche, quand un stimulus dépolarisant est suffisamment important pour que *V* dépasse le seuil d'excitation, sa valeur augmente ensuite drastiquement, atteint un maximum typiquement situé aux environs de 40 mV (l'augmentation a en effet été suffisante pour inverser la polarité), décroît ensuite rapidement jusqu'à dépasser V_0, puis remonte très lentement vers V_0. Cette réaction est *stéréotypée*, c'est-à-dire qu'elle prend toujours approximativement la même forme, atteint toujours approximativement le même maximum et a toujours approximativement la même durée et ce *quelle que soit l'intensité, la forme ou la durée du stimulus l'ayant initiée*. C'est cette réaction stéréotypée du potentiel de membrane qu'on appelle un **potentiel d'action**. (Le terme *influx nerveux*, plus vague, est aussi parfois utilisé pour désigner un potentiel d'action ou une succession de potentiels d'action.)

Dans la sous-section 1.B3, nous verrons que cette réponse stéréotypée est rendue possible par les canaux tensiodépendants qui réagissent à la valeur de *V* en s'ouvrant et en se fermant, ce qui change la perméabilité de la membrane à certains ions, donc modifie la

---

[8] On peut concevoir des exceptions : par exemple, les cellules épithéliales n'ont pas un milieu extracellulaire uniforme : elles baignent dans le liquide interstitiel mais une de leurs faces donne sur un autre milieu (par exemple, la cavité intestinale) ; la composition ionique de cet autre milieu étant différente de celle du liquide interstitiel, le potentiel de membrane sur cette face peut donc différer de celui mesurable sur les faces en contact avec le liquide interstitiel. Il n'en demeure pas moins que toute perturbation de ce potentiel de membrane cause une réponse linéaire et localisée.

conductance électrique de cette dernière et lui donne donc son comportement non linéaire.

Notons sur la figure 1.B1.2 que le potentiel d'action débute par une phase souvent appelé *pic*, *impulsion* ou *décharge*. Il se termine par un lent retour à V_0 qu'on appelle la *récupération*. Pendant la majorité de cette dernière, le neurone demeure incapable de répondre à un nouveau stimulus ; c'est la **phase réfractaire**.

Sur le plan du vocabulaire, il est à noter que les stimulus hyperpolarisants et dépolarisants sont souvent qualifiés respectivement de **stimulus inhibiteurs** et de **stimulus excitateurs**. En effet, le premier a tendance à éloigner V du seuil d'excitation alors que le second l'en approche. Ces termes prennent encore plus de sens dans une situation *in vivo*, où l'excitation ou l'inhibition d'un interneurone ou d'un neurone moteur est causée par les très nombreuses synapses que portent ses dendrites. La libération de neurotransmetteurs par chacune de ces synapses cause, dans le neurone postsynaptique, un potentiel gradué qui peut être soit inhibiteur ou excitateur. Typiquement, il faut une *combinaison* de plusieurs de ces potentiels postsynaptiques excitateurs ou inhibiteurs (abrégés PPSE et PPSI) pour que le neurone ainsi stimulé atteigne son seuil d'excitation (Hille 2001, chap. 6).

Toujours sur le plan du vocabulaire, soulignons que l'utilisation du mot «potentiel» dans «potentiel gradué» ou «potentiel d'action» peut porter à confusion : contrairement au potentiel de membrane, une grandeur instantanée, fonction du temps, un potentiel gradué et un potentiel d'action sont des *événements* qui ont une *durée* dans le temps.

La propagation dans l'espace, le long de l'axolemme. Le fait que le potentiel d'action a une forme et une durée indépendantes du stimulus n'est pas la seule caractéristique qui le distingue des potentiels gradués. Maintenant que nous avons étudié leur dépendance temporelle, nous allons nous pencher sur la dépendance spatiale de ces deux catégories de réponses au stimulus.

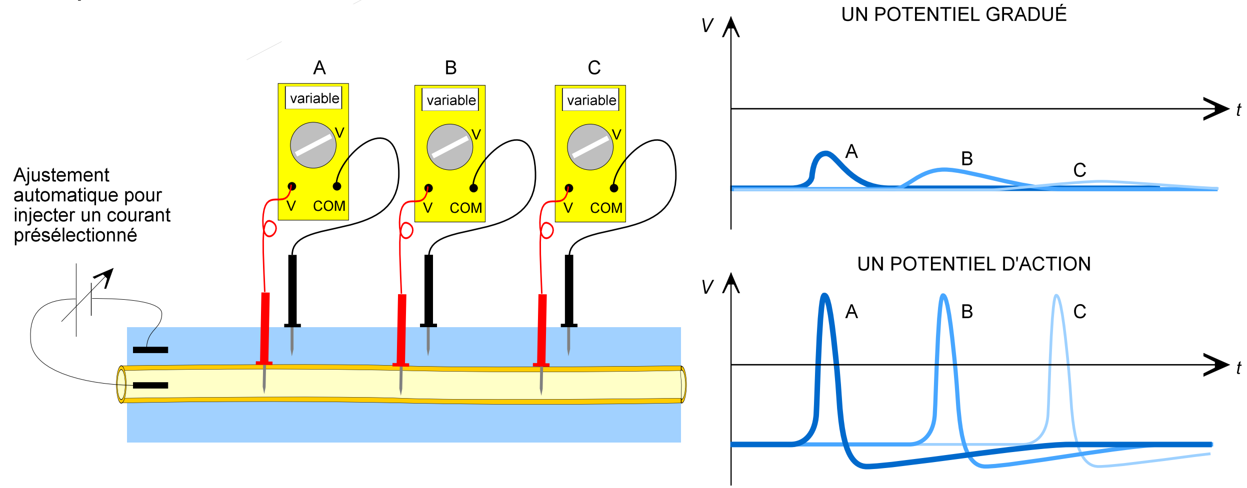


Figure 1.B1.3 Les potentiels gradués s'estompent rapidement quand ils se propagent le long d'un axone, alors que les potentiels d'action maintiennent leur amplitude et leur forme malgré l'inévitable dissipation d'énergie due à la résistance électrique de l'axoplasme.

Pour étudier la dépendance spatiale des potentiels gradués et des potentiels d'action, nous considérons l'axone illustré à la moitié gauche de la **figure 1.B1.3**, lequel est stimulé à son

extrémité gauche et le long duquel nous pouvons mesurer $V(t)$ en plusieurs points bien séparés dans l'espace. Pour les fins de l'illustration, nous avons représenté trois de ces points. La moitié droite de la figure illustre deux graphiques : celui du haut correspond aux enregistrements respectifs des trois «voltmètres» quand le stimulus cause un potentiel gradué ; celui du bas correspond aux mêmes enregistrements lors d'une seconde expérience, où le stimulus serait plus important, suffisamment pour causer un potentiel d'action. Sur chacun de ces trois graphiques, nous avons superposé les trois enregistrements, mais les avons distingué par une couleur et une largeur de trait différents.

Comme le montre la figure 1.B1.3, le potentiel gradué ne fait pas que s'estomper avec le temps, il s'estompe aussi dans l'espace : on constate que l'intensité de la perturbation est d'autant plus faible que le potentiel de membrane est mesuré loin du point d'injection de la charge-stimulus ; de même, on remarque que la largeur de cette perturbation augmente à mesure que son amplitude est plus faible. Ceci correspond à ce qu'on attendrait d'une *simple diffusion des charges injectées* : leur distribution le long de la longueur de l'axone aurait alors la forme d'une gaussienne dont la largeur croîtrait avec le temps (Nelson 2008, section 12.1).

En revanche, la propagation le long de l'axone d'un potentiel d'action diffère de celle du potentiel gradué par une caractéristique essentielle : il se propage le long de la membrane *sans perdre de son intensité et sans altérer sa forme ou sa durée*. En somme, il conserve la même forme stéréotypée. Ce maintien d'amplitude nécessite l'injection constante d'énergie ; en effet, la propagation du potentiel d'action le long de l'axone reposant inévitablement sur des mouvements de charge, il y a forcément dissipation d'énergie dans la résistance électrique de l'axoplasme ; en l'absence d'injection constante d'énergie, le potentiel d'action perdrait donc de l'amplitude (Nelson 2008, chap. 12 ; voir aussi Scott 2002, où ce thème est récurrent). La sous-section 1.B2 éclaircira l'origine de cette énergie.

Cette capacité à maintenir sa forme est ce qui permet au potentiel d'action de se propager sur de longues distances, c'est-à-dire toute la longueur des axones, alors que les potentiels gradués ont rarement de l'influence au delà de quelques millimètres (Sterratt 2011, chap. 2, 4, 8). Le potentiel d'action est donc à la fois un événement qui se prolonge dans le temps mais aussi qui se prolonge dans l'espace. Il a certaines des caractéristiques d'un soliton (Scott 2002, chap. 4), comme par exemple un tsunami, et qu'on peut donc en parler en employant le même vocabulaire : un même tsunami «progresse» sur une longue distance et «dure» dans le temps. De la même façon, c'est le même potentiel d'action qui circule d'un bout à l'autre d'un axone. En revanche, le potentiel d'action se distingue des vagues ordinaires, qui sont linéaires, s'estompent à mesure que leur énergie se dissipe et peuvent se croiser sans altérer leur forme. Ces dernières se comparent plutôt aux potentiels gradués, alors que le potentiel d'action serait plutôt une vague *régénératrice*.

Ainsi, on s'attend à pouvoir décrire les potentiels d'action et les potentiels gradués grâce à des solutions progressives d'une équation d'onde ou d'une équation différentielle apparentée. On s'attend aussi à ce que l'équation en question soit non linéaire (bien qu'elle puisse présenter une limite linéaire qui corresponde au cas des potentiels gradués). Nous reviendrons à ces aspects mathématiques dans la sous-section 1.B3. L'appendice A présente quelques outils mathématiques de base de la dynamique non linéaire.

1.B1.3 La membrane, un condensateur chargé

Qu'une cellule soit excitable ou non, nous avons établi qu'on mesure une différence de potentiel entre les parois de sa membrane plasmique. Or, la différence de potentiel, le champ électrique et une séparation de charge sont trois concepts indissociables en électrostatique[9]. En effet, une séparation de charge produit un champ électrique, auquel est associée la différence de potentiel (dont le module du champ est le gradient). Puisqu'une différence de potentiel est mesurée aux bornes de la membrane, il *doit* donc exister un champ électrique dans la membrane et une charge nette accumulée localement de part et d'autre de la membrane.

Le champ électrique dans la membrane est énorme. Les membranes biologiques ont une épaisseur de seulement $L = 4{,}5$ nm. Un écart de potentiel $|V| = 70$ mV entre les parois d'une membrane aussi mince correspond à un champ électrique dont le module est $E = |V|/L = 1{,}5\times10^7$ V/m, ce qui est énorme. (À titre comparatif, la tension de claquage de l'air, où un arc électrique se produit, correspond à un champ de l'ordre de $3{,}6\times10^6$ V/m.)

Cet imposant champ électrique exerce une force significative sur les chaînes latérales chargées qui font partie des protéines enchâssées dans la membrane plasmique[10]. Il est évident qu'il participe donc à la détermination de leur conformation et que, si le champ électrique venait à changer, on puisse s'attendre à ce que les protéines comportant des chaînes latérales chargées dans la partie hydrophobe de la membrane changent drastiquement de conformation (Nelson 2008, chap. 12). Comme nous le verrons, c'est le mécanisme de base expliquant le fonctionnement des canaux tensiodépendants, que nous avons évoqué plusieurs fois à la section 1.A et sur lesquels nous reviendrons à la sous-section 1.B3. En fait, même les portions non chargées d'une protéine transmembranaire peuvent être affectées directement par un changement de champ électrique : par exemple, la disposition d'une hélice α fait en sorte que les dipôles électriques des liens polaires répétitifs présents dans le squelette polypeptidique s'additionnent et produisent un dipôle important, sur lequel le champ électrique exerce un moment de force (Läuger 1991, chap. 3).

La charge nette accumulée de part et d'autre de la membrane est minuscule. Pour évaluer la charge accumulée localement de part et d'autre de la membrane, on peut considérer cette dernière comme un condensateur plan, dont l'épaisseur est 4,5 nm. Puisque la portion hydrophobe de la membrane a des propriétés électriques similaires à celles de l'huile végétale, on s'attend à ce qu'elle soit un isolant électrique présentant une permittivité relative d'environ $\varepsilon_r \approx 5$. On peut donc évaluer sa capacité électrique $\varepsilon A/d$. Conformément à l'usage, nous utiliserons le symbole C pour désigner la capacité par *unité de surface*, c'est-à-dire $C = \varepsilon/d$. On obtient donc une capacité de l'ordre de :

$$C \approx 1\ \mu\text{F/cm}^2$$

---

[9] Il n'est évidemment pas question, ici, de champ électrique induit mais exclusivement de champ électrique coulombien. D'ailleurs, la notion de potentiel ne serait pas pertinente si un champ induit était présent.

[10] En pratique, l'effet du champ électrique $\vec{\mathbf{E}}$ est réduit par la polarisation du matériau dielectrique constituant la membrane, mais demeure néanmoins imposant.

Dans le modèle numérique que nous introduirons au chapitre 3, la valeur ci-dessus est utilisée pour la capacité surfacique. En raison de cette capacité, la charge nette accumulée de part et d'autre d'un centimètre carré de membrane est $Q = CV$ = 65,5 nC. Elle correspond à la charge de seulement 4×10^9 ions monovalents, soit *moins de* 10^{-12} *mol* (pour un centimètre carré de membrane). Il s'agit d'une *très faible proportion* des ions contenus par la cellule ou par le compartiment extracellulaire, soit environ le millionième[11], et ce, quelle que soit la géométrie de la cellule.

La charge nette est localisée dans une fine couche. Conclure qu'il existe une charge nette accumulée de chaque côté de la membrane ne doit pas faire imaginer que la cellule est chargée dans l'entièreté de son volume, ce qui serait une grave erreur conceptuelle. Essentiellement en raison de leur attraction mutuelle, les charges nettes accumulées de part et d'autre de la membrane *demeurent à proximité de cette dernière*, dans une fine couche dont l'épaisseur est de moins d'un nanomètre. Les physiciens reconnaîtrons que l'épaisseur de la fine couche en question est la *longueur de Debye* (Nelson 2008, chap. 7). Au delà de cette distance, le cytosol et le liquide extracellulaire retrouvent leur neutralité électrique. L'image du condensateur plan est donc tout à fait valide.

Notons que le champ électrique, s'il est maximum dans la membrane, a quand même une valeur non nulle dans la fine couche de charge nette accumulée (c'est donc aussi le cas du gradient de potentiel). À mesure qu'on s'éloigne de la membrane, le champ électrique décroît et n'atteint une valeur nulle que lorsque le milieu électriquement neutre est atteint. (Le théorème de Gauss permet de comprendre l'origine de ce résultat.) Notons que cette légère extension du champ électrique hors de la membrane lui permet d'attirer ou de repousser les ions qui se trouvent dans la fine couche chargée.

Comme nous le verrons à la sous-section 1.B3, les ordres de grandeur que nous venons d'établir sont important pour comprendre le fonctionnement d'un potentiel d'action. En particulier, un très petit transfert de charge modifie de façon significative le potentiel de membrane sans modifier perceptiblement la concentration totale des ions de part et d'autre de la membrane.

1.B2) Potentiel de repos dans les cellules non excitables

La sous-section 1.B1 nous a permis d'aborder l'existence du potentiel de membrane dans toutes les cellules, de distinguer la façon dont il réagit aux stimulus dans les cellules non excitables et dans les cellules excitables, puis de l'interpréter en terme de champ et de charges électriques. Maintenant que nous avons présenté ces phénomènes de base, nous débutons notre étude des mécanismes physiques qui les expliquent.

Dans cette seconde sous-section, nous nous intéresserons particulièrement aux courants ioniques qui traversent la membrane sous l'effet combiné de la différence de potentiel V et du gradient de concentration. Nous nous concentrerons d'abord sur une unique espèce

[11] En effet, nous verrons plus loin que les principaux ions ont tous une concentration interne ou extracellulaire de l'ordre de 10 à 150 mmol/L. Sachant le rayon typique d'un axone, on peut calculer le volume d'un axone dont la surface mesure 1 cm^2 (valeur pour laquelle nous avons obtenu une charge nette de l'ordre 10^{-12} mol) et en déduire que son contenu est de l'ordre de 10^{-6} mol pour chaque espèce ionique. Cet argument est généralisable aux autres géométries.

ionique, distinguant le cas où elle est à l'équilibre de celle où elle ne l'est pas. Cela nous conduira à introduire l'*équation de Nernst*. Ensuite, on considérera les cas où la membrane est perméable à plusieurs espèces ioniques, et peut se trouver dans une situation stationnaire (ou quasi-stationnaire) bien que des espèces ioniques soient hors d'équilibre. Cela nous conduira à conclure qu'une cellule vivante est nécessairement *fortement hors d'équilibre*, à introduire la cause de ce déséquilibre, soit la pompe Na/K, et à conclure qu'une cellule au repos est dans une situation stationnaire.

Pour aborder ces nombreux concepts, nous utiliserons une séquence de situations concrètes dont la complexité sera croissante. Il sera d'abord question d'une membrane non biologique (artificielle), ayant un comportement linéaire (quasi-ohmique) et n'étant perméable qu'à une espèce ionique. Dans un deuxième temps, nous considérerons une membrane perméable à trois espèces ioniques. Enfin, nous considérerons un modèle d'une membrane plasmique de cellule (non excitable) réelle. Le cas des cellules excitables, le plus complexe, sera étudié à la sous-section suivante.

1.B2.1 L'équilibre de Nernst

Dans un premier temps, considérons une situation simple où une membrane artificielle peut être considérée comme perméable aux ions Na^+ et imperméable à toutes les autres espèces ioniques. Une telle membrane simple peut être obtenue artificiellement en laboratoire en fabriquant une bicouche et en y insérant des protéines choisies (Läuger 1991), qui seraient dans ce cas-ci des protéines de transport formant des canaux de fuites et ne laissant traverser sélectivement que les ions Na^+.

Dans la situation illustrée à la **figure 1.B2.1**, la membrane que nous venons de décrire est utilisée pour séparer deux réservoirs, dans lesquels on a mis en solution du NaCl. Ce dernier est cependant en concentration trois fois plus élevée dans le compartiment illustré à droite. Cette situation a un certain lien avec une cellule réelle puisque, comme nous le verrons, les ions Na^+ et Cl^- y ont des concentrations internes et externes différentes. (Aux fins de la visualisation du potentiel de membrane $V = V_{int} - V_{ext}$, nous avons arbitrairement identifié sur la figure le coté gauche comme «extérieur» et le côté droit comme «intérieur»).

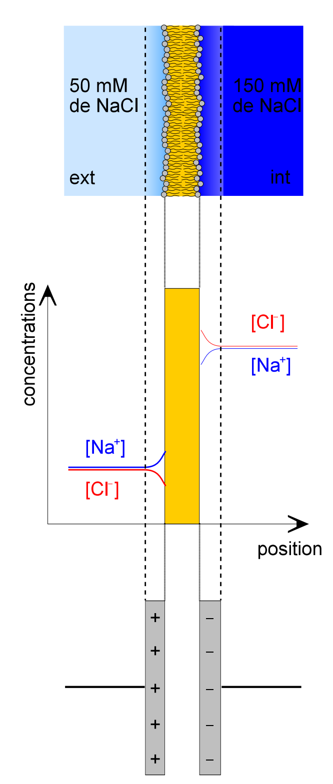


Figure 1.B2.1 Peu d'ions Na^+ traversent la membrane car un équilibre est rapidement atteint. De plus, la charge nette demeure localisée.

En raison de leur concentration différente, les ions Na^+ qui bougent au hasard ont initialement une plus forte probabilité de se déplacer du côté droit vers le côté gauche qu'en sens inverse. Il apparaît donc un courant net de Na^+ vers la gauche. Rapidement, ce dernier fait apparaître une fine couche de charge nette accumulée de part et d'autre de la membrane, donc une différence de potentiel V. Les ions Na^+ suivants ne peuvent donc traverser qu'en franchissant une barrière énergétique qV. Cette barrière énergétique croît à mesure que la charge nette croît, donc la traversée nette d'ions Na^+

supplémentaires devient de plus en plus lente et on atteint rapidement un équilibre de *cette* espèce ionique, appelé **équilibre de Nernst**.

Le lecteur s'attend certainement à ce que, une fois atteint l'équilibre en question, le ratio de concentration soit relié à la valeur d'équilibre $V = V_{eq}$ par le facteur de Boltzmann, soit $c_{int}/c_{ext} = \exp(-qV_{eq}/k_B T)$. L'usage en électrophysiologie est d'utiliser le symbole E_{Na} pour désigner la valeur d'équilibre V_{eq} pour l'espèce ionique Na^+. De plus, il est aussi d'usage d'inverser cette équation qui devient l'**équation de Nernst** :

Potentiel d'inversion

$$E_X = -\frac{k_B T}{q} \ln \frac{c_{X,int}}{c_{X,ext}} \qquad \text{(équation 1.B2.1)}$$

où X est une espèce ionique quelconque et où E_X est appelé **potentiel de Nernst** ou *potentiel d'inversion* (si elles ne sont pas déjà claires, les raisons justifiant ce dernier terme le deviendront davantage après que nous ayons introduit l'équation 1.B2.4).

L'équation 1.B2.1 mérite deux remarques importantes :

- Soulignons que le potentiel de Nernst a, en général, une valeur *différente pour chaque espèce ionique*. Par exemple, E_{Na} et E_{Cl} auraient des signes opposés dans la situation illustrée à la figure 1.B2.1. De plus, remarquez que l'atteinte de l'équilibre par une espèce ionique ne signifie pas que toutes les autres espèces sont elles aussi à l'équilibre : à la figure 1.B2.1, seul le sodium est à l'équilibre.
- Quand l'équation 1.B2.1 est respectée, il n'y a aucun courant *net* de l'espèce ionique X, mais cet équilibre ne signifie pas qu'aucun ion X ne traverse la membrane ; il signifie plutôt qu'à chaque unité de temps et en chaque point de la membrane, des ions X y voyagent *en nombre égal dans les deux sens*. En effet, la différence de concentration continue de causer un **courant de diffusion**, alors que le champ électrique cause un **courant de conduction**, ces deux courants étant égaux et en sens inverses. D'ailleurs, une autre approche pour démontrer l'équation 1.B2.1, utilisée par Nelson 2008 (chap. 4), consiste à concevoir l'équilibre de Nernst comme la situation où le courant de diffusion contrecarre exactement le courant de conduction[12] en chaque point de la membrane. Le premier bloc de l'appendice B présente un condensé de cette démonstration.

Concluons maintenant avec deux remarques supplémentaires, qui portent sur la situation expérimentale illustrée à la figure 1.B2.1. Premièrement, le champ électrique qui correspond à la différence de potentiel V n'affecte pas que les ions Na^+. Les ions Cl^- ont eux aussi tendance à initier un courant de conduction sous l'effet de V, ce qui signifie qu'ils sont attirés

[12] Distinguer ces deux contributions au courant net n'est pas sans mérite et fournit de nombreuses intuitions précieuses. Par exemple, on comprend que le courant de conduction dirigé vers la droite est ce qui explique que les ions Na^+ excédentaires ayant diffusé du côté gauche ne peuvent se répandre dans tout le volume du compartiment de gauche et y répartir leur charge : le champ électrique les attire vers la droite. De la même façon, il empêche, en les repoussant vers la droite, les ions Na^+ du compartiment de droite de diffuser vers la membrane pour éliminer la baisse localisée de concentration qu'on y trouve. En somme, c'est le courant de conduction qui fait en sorte que les charges nettes demeurent localisées dans une fine couche, dont l'épaisseur a l'ordre de grandeur de la longueur de Debye, comme nous l'avons exposé à la sous-section 1.B1.

vers la membrane dans le compartiment droit et repoussés de cette dernière dans le compartiment gauche. Comme nous l'avons illustré, les Cl^{-} participent donc eux aussi à la charge accumulée, malgré l'imperméabilité de la membrane à leur égard. Comme le montre Nelson 2008 (chap. 9), la distribution exacte des deux types d'ions peut être obtenue comme solution de l'équation de Poisson-Boltzmann et donne essentiellement une exponentielle. Au chapitre suivant, la figure 2.9 présentera une solution obtenue par une simulation.

Dernière remarque : procéder comme nous l'avons fait, en fixant expérimentalement c_{int}/c_{ext} et en attendant que l'équilibre se forme par l'ajustement de V, est *très rapide*. En effet, comme nous l'avons soulevé dans la sous-section 1.B1, une très faible quantité de charge est requise pour charger la capacité de la membrane. En revanche, on aurait pu aussi tenter une expérience différente où on aurait fixé V au lieu de fixer c_{int}/c_{ext}. (Pour ce faire, on aurait plongé des électrodes dans chaque compartiment.) C'est alors les concentrations qui auraient dû s'ajuster jusqu'à présenter le ratio c_{int}/c_{ext} requis pour l'équilibre. Cela aurait été *très lent*, puisqu'une proportion significative des ions Na^{+} aurait dû traverser la membrane. Les physiciens sont habitués de penser au facteur de Boltzmann en terme d'une différence d'énergie fixe à laquelle doit s'ajuster un ratio de population, un peu comme dans cette seconde expérience. En revanche, c'est clairement l'inverse, soit l'expérience présentée à la figure 1.B2.1 où les concentrations sont fixes et où la barrière d'énergie s'adapte, qui correspond le mieux aux phénomènes dans les cellules excitables que nous allons étudier à la prochaine sous-section.

1.B2.2 Le courant d'une espèce ionique

Maintenant que nous avons décrit la situation d'équilibre, nous allons nous attarder davantage à la situation transitoire, entre le début de l'expérience et l'atteinte de l'équilibre. Il s'agit d'un exemple de situation *hors d'équilibre*. Bien que la situation hors d'équilibre soit ici très brève, elle revêt une grande importance pour les cellules vivantes, où des situations hors d'équilibre durent, comme nous le verrons, toute la vie de la cellule.

Une espèce ionique est hors d'équilibre quand son potentiel de Nernst (déterminé par son gradient de concentration) ne correspond pas à la valeur du potentiel de membrane V. L'appendice B décrit cette situation en détail. Ici, nous privilégierons l'hypothèse quasi-ohmique, une version moins physiquement réaliste mais plus simple, où on peut imaginer que les courants de conduction et de diffusion sont uniformes dans l'épaisseur de la membrane, le premier ne dépendant que de V et le second ne dépendant que du gradient de concentration. Dans cette optique simplifiée, quand V change, le courant de conduction change, mais le courant de diffusion demeure essentiellement constant. Le courant net que nous cherchons peut donc être conceptualisé comme *un excédant ou un déficit de courant de conduction* sur le courant de diffusion. Pour l'obtenir, il suffit donc de soustraire ces deux courants.

Le premier des deux courants est le courant de conduction : causé par la différence de potentiel V, il est proportionnel à cette dernière (loi d'Ohm) et peut donc être exprimé :

$$J_{cond} = \frac{V}{r_X} = g_X V \qquad \text{(équation 1.B2.2)}$$

Puisque V est défini comme $V_{int} - V_{ext}$, une valeur positive de V cause un courant de conduction vers l'extérieur de la cellule (puisque la charge électrique nette s'écoule en suivant le champ électrique, qui est en sens inverse du gradient de potentiel). L'équation 1.B2.2 impose donc une convention selon laquelle *les courants positifs sont ceux qui s'écoulent du compartiment intérieur vers le compartiment extérieur*.

Par définition du potentiel de Nernst donné par l'équation 1.B2.1, on sait que le courant net de l'espèce ionique X est nul quand $V = E_X$. Cela signifie que les courants de conduction et de diffusion, considérés comme constants, sont alors égaux et en sens opposés. Le courant de diffusion est donc l'inverse du courant de conduction à l'équilibre, soit :

$$J_{diff} = -g_X E_X \qquad \text{(équation 1.B2.3)}$$

Pour des concentrations données, cette dernière équation représente une valeur constante (en vertu de l'équation 1.B2.1).

Typiquement, on exprime ces courants en microampères par centimètre carré de membrane (μA/cm^2). La résistance r_X est donc en microhms par centimètre carré (μΩ/cm^2) et la conductance g_X, en microsiemens par centimètre carré (μS/cm^2). Techniquement, J est une densité de courant, mais pour alléger le texte on continuera d'utiliser le terme «courant». Il est à noter que g_X est la conductance de la membrane à l'espèce ionique X ; en général, la membrane a une conductance qui diffère d'une espèce ionique à l'autre.

Soustraire les équations 1.B2.2 et 1.B2.3 donne le courant net d'une espèce ionique :

Courant ionique (approximation quasi-ohmique)

$$J_X = g_X(V - E_X) \qquad \text{(équation 1.B2.4)}$$

Tel qu'attendu, on obtient que $J_X = 0$ quand $V = E_X$. Notons encore ici que les courants positifs sont ceux dirigés du compartiment intérieur vers le compartiment extérieur.

Encore une fois, soulignons que cette équation correspond à l'**approximation quasi-ohmique**, voulant que $J_X \propto (V - E_X)$. À la sous-section 1.B3, on considérera que cette équation est toujours valide même si g_X ne sera alors plus une constante. Cette approximation est largement utilisée dans la littérature et le sera aussi dans notre modèle numérique, présenté au chapitre 3. L'appendice B en présente les limites.

Il est à noter que la conductance g_X a un effet sur le temps requis pour atteindre l'équilibre, mais pas sur la valeur de l'équilibre, $V = E_X$. En outre, si on pouvait, une fois l'équilibre atteint, doubler le nombre de canaux ouverts permettant le passage des ions X, les courants de diffusion et de conduction doubleraient tous les deux, mais demeureraient opposés et d'égales grandeurs ; les ions X demeureraient donc à l'équilibre.

Selon l'équation 1.B2.4, le potentiel de Nernst est la valeur de V pour laquelle J change de signe, donc de sens. C'est pourquoi il est souvent appelé **potentiel d'inversion**, comme

nous l'avons relevé immédiatement sous l'équation 1.B2.1. Ainsi, quand $V > E_X$, un courant électrique net s'écoule vers l'extérieur de la cellule (ce qui correspond à des ions positifs s'écoulant vers l'extérieur ou à des ions négatifs s'écoulant vers l'intérieur). Inversement, quand $V < E_X$, le courant électrique net est vers l'intérieur.

La **figure 1.B2.2** illustre les proportions relatives des courants de diffusion et de conduction dans ces deux situations. Pour faciliter l'illustration, on a représenté une situation qui a peu à voir avec une cellule : une paire de plaques (isolées électriquement) établissent un champ électrique uniforme dans une portion d'un récipient où se trouve une solution contenant l'ion X (en bleu sur la figure).

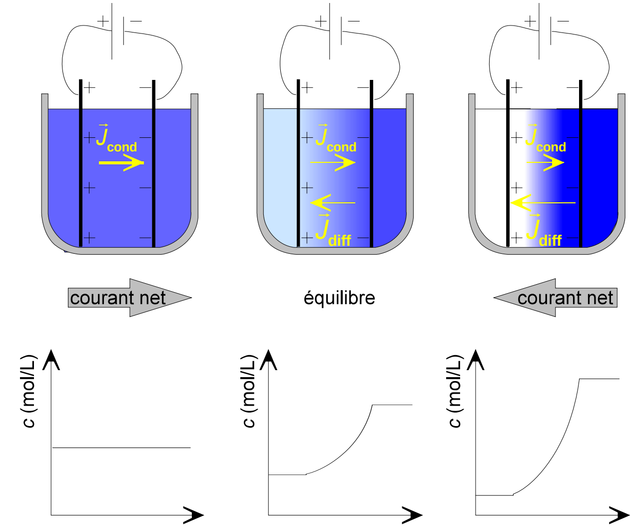


Figure 1.B2.2 Le courant net est un excès ou un déficit de courant de conduction par rapport au courant de diffusion ; il devient nul à l'équilibre, quand $V = E_X$.

Maintenant que nous savons décrire quantitativement une situation où *une* espèce ionique est à l'équilibre ou hors équilibre, nous pouvons nous attarder à des cas plus complexes, où la membrane est perméable à plus d'une espèce ionique, chacune avec une conductance en général différente. Cela nous conduira à identifier la *cause du potentiel de repos* dans les cellules animales vivantes. Débutons par préciser le vocabulaire qui sera utilisé.

1.B2.3 Équilibre ou situation stationnaire ?

Quand une membrane est perméable à plusieurs espèces ioniques, il est possible que ces dernières soient toutes à l'équilibre, qu'aucune ne le soit ou encore que certaines le soient alors que d'autres ne le sont pas. Les situations hors d'équilibre se distinguent aussi par leur effet sur V ou sur les concentrations ioniques de chaque côté de la membrane.

En général, nous utiliserons le terme «équilibre» pour décrire une *membrane* seulement si toutes les espèces ioniques sont simultanément à l'équilibre. Il s'agit de l'*équilibre de Donnan* que nous allons étudier ci-dessous et qui est, nous le verrons, un cas purement théorique. Soulignons que la situation de la figure 1.B2.1 ne correspond pas à cette définition puisque le Cl^- n'est pas à l'équilibre ; le courant de chlore est nul seulement parce que nous supposons que la membrane est parfaitement imperméable à cette espèce ionique.

Quand une ou plusieurs espèces ionique sont hors d'équilibre et que la membrane leur est perméable, il y a d'abord un effet rapide sur V : en un délai de l'ordre de la milliseconde, les $\sim 10^{-12}$ mol/cm^2 requises pour charger ou décharger la capacité électrique de la membrane ont tôt fait de traverser. C'est ce qui s'est produit, dans le cas illustré à la figure 1.B2.1, pendant le court délai qui a séparé l'ajout des ions en solution et l'atteinte de l'équilibre des ions sodium. Un effet rapide sur V est aussi ce qui se produit pendant le passage d'un potentiel d'action dans un axone. De telles situations peuvent être qualifiées de **transitoires** ou encore de **non stationnaires**.

Quand la valeur de *V* s'est stabilisée, les courants nets de chaque espèce ionique se stabilisent aussi, en vertu de l'équation 1.B2.4. Le fait que la valeur de *V* s'est stabilisée signifie nécessairement que le courant total (de toutes les espèces ioniques combinées) est devenu nul. Cela n'exclut pas, cependant, qu'à *plus long terme* les courants ioniques individuels modifient les concentrations de chaque espèce ionique de part et d'autre de la membrane. Une telle situation, où il n'y a aucun changement notable à court terme mais où des changements se produisent à très long terme, est qualifiée de **quasi-stationnaire**.

Par exemple, si on modifiait la membrane de la figure 1.B2.1 pour la rendre perméable aux ions Cl^- en plus des ions Na^+, on aboutirait rapidement à une situation quasi-stationnaire où les deux courants sont égaux, donc où *V* est stable (=V_0), mais où les ions du compartiment droit se déversent lentement dans le compartiment gauche. On peut facilement vérifier qu'on obtient $V_0 = 0$ seulement si $g_{Cl} = g_{Na}$, $V_0 > 0$ si $g_{Cl} < g_{Na}$ et $V_0 < 0$ si $g_{Cl} > g_{Na}$. (En pratique, si on réalisait l'expérience de la figure 1.B2.1, il serait impossible que g_{Cl} soit parfaitement nul : quelle que soit la valeur négligeable de J_{Cl}, elle serait non nulle. Après la période transitoire, la figure 1.B2.1 décrirait donc en réalité une situation quasi-stationnaire.)

Enfin, quand les concentrations ioniques sont constantes même à très long terme *malgré l'écoulement de courants nets* de plusieurs espèces ioniques, la situation est **stationnaire**.

Puisqu'elle conserve à long terme le même potentiel de repos et les mêmes concentrations ioniques internes et externes, une cellule non excitable réelle *ne peut pas* être dans une situation quasi-stationnaire. Elle ne peut appartenir qu'à deux catégories : elle est soit à l'équilibre de Donnan, soit dans une situation stationnaire. Dans le prochain bloc, nous allons nous employer à éliminer la première possibilité. Dans les deux blocs suivants, nous conclurons qu'elle est dans une situation stationnaire, causée par les pompes Na/K.

1.B2.4 L'équilibre de Donnan

Considérons encore une membrane artificielle comme celle de la figure 1.B2.1, mais où nous apportons des changements qui la rendront plus proche d'une cellule vivante : 1) On insère dans la bicouche les protéines requises pour la rendre perméable aux ions Na^+, K^+ et Cl^-. 2) Plutôt que la forme plane de la figure 1.B2.1, on utilise les techniques permettant de donner à une membrane artificielle la forme d'une vésicule imitant une cellule (Läuger 1991). 3) On enferme dans ces vésicules un liquide riche en protéines solubles (ex : de l'albumine), alors que le milieu externe est une solution aqueuse contenant du NaCl et du KCl. On obtient ainsi une imitation rudimentaire d'une cellule qui prend la forme d'un «sac plein d'albumine» baignant dans une imitation de milieu extracellulaire contenant des ions Na^+, K^+ et Cl^-.

À court terme, on obtient une situation quasi-stationnaire où *V* est non nul (voir la figure 2.6, au prochain chapitre, pour un cas semblable). Mais on s'intéresse ici à la valeur d'équilibre que prend *V* à long terme si on laisse tous les ions atteindre leur équilibre de Nernst, une situation appelée **équilibre de Donnan** :

Équilibre de Donnan

$$V_0 = E_{Na} = E_K = E_{Cl} \qquad \text{(équation 1.B2.5)}$$

La clé du raisonnement qui suit est qu'à toute valeur du pH qui est raisonnablement proche d'un pH cellulaire, une proportion des chaînes latérales acides et basiques des protéines se dissocie et donne typiquement aux protéines une *charge globalement négative*. Or, même en l'absence de protéines de transport, les petits ions H^+ et OH^- finissent par diffuser hors de la vésicule en traversant la bicouche pure qui ne peut avoir une conductance parfaitement nulle. En revanche, cette dernière demeure parfaitement imperméable aux protéines puisque ces dernières sont des macromolécules énormes.

De toute évidence, le volume interne de la cellule doit conserver sa neutralité électrique. Puisque les protéines sont chargées négativement, il est donc nécessaire qu'un plus grand nombre d'ions positifs (Na^+ et K^+) que d'ions négatifs (Cl^-) pénètrent dans la cellule.

Pour évaluer la portée de ce constat, utilisons des valeurs numériques typiques, selon lesquelles le milieu extracellulaire contient 140 mmol/L de NaCl et 10 mmol/L de KCl, alors que les protéines dans la cellule portent 125 mmol/L de charges élémentaires négatives (Nelson 2008, chap. 11 ; voir aussi la figure 1.B2.3).

La neutralité électrique impose que les concentrations internes soient reliées par

$$c_{\text{Na}} + c_{\text{K}} - c_{\text{Cl}} = 125 \text{ mmol/L} \qquad \text{(équation 1.B2.6)}$$

Par ailleurs, à l'équilibre, l'équation 1.B2.1 doit être respectée simultanément pour chaque ion. Comme il existe un seul potentiel de membrane $V = V_0$, ce dernier doit être égal à tous les potentiels de Nernst, comme l'affirme l'équation 1.B2.5. Ces derniers sont donc tous égaux entre eux : $E_{\text{Cl}} = E_{\text{K}} = E_{\text{Na}}$. En substituant l'équation 1.B2.1, cela donne :

$$\frac{c_{\text{Na}}}{140} = \frac{c_{\text{K}}}{10} = \frac{150}{c_{\text{Cl}}} \qquad \text{(équation 1.B2.7)}$$

où les valeurs numériques sont en mmol/L et où le troisième membre est inversé par rapport aux autres en raison du signe négatif de *q* dans l'équation 1.B2.1 pour les ions Cl^-. En utilisant l'équation 1.B2.7 pour exprimer toutes les concentrations en fonction d'une seule, on peut substituer dans l'équation 1.B2.6 et ainsi obtenir qu'à l'équilibre de Donnan, les concentrations internes d'ions Na^+, K^+ et Cl^- sont respectivement de 210, 15 et 100 mmol/L et le potentiel de repos est $V_0 = -10$ mV.

L'étude de cette situation a le mérite de nous faire réaliser qu'il ne saurait y avoir de potentiel de membrane si la membrane n'avait pas une perméabilité sélective. De là à conclure que nous venons d'élucider la cause du potentiel de membrane, il y a cependant un pas qu'il ne faut surtout pas franchir.

En effet, nous allons maintenant voir pourquoi notre vésicule, et toute cellule réelle qui aurait une membrane similaire, *ne pourrait pas survivre* à l'équilibre de Donnan que nous venons de décrire : si on additionne les concentrations internes, il y a 325 mmol/L d'ions, alors qu'il y a seulement 300 mmol/L d'ions à l'extérieur. Cette différence de concentration

cause une pression osmotique $p = Nk_BT/V = ck_BT$ = 61,7 kPa, ce qui représente 200 fois les quelques 300 Pa que peut supporter une membrane réelle sans éclater (voir la section 1.A). En conséquence, aucune cellule vivante ne peut se trouver à l'équilibre de Donnan. Pour éviter l'éclatement, la logique nous force à conclure qu'elle doit forcément maintenir ses concentrations ioniques internes *hors d'équilibre*. Comment fait-elle ? Et dans quelle mesure a-t-il un impact sur le potentiel de membrane ?

1.B2.5 Les mesures montrent qu'une cellule réelle est hors d'équilibre

Abandonnons nos membranes artificielles pour nous pencher sur une cellule réelle. On peut facilement confirmer qu'une telle cellule est effectivement hors d'équilibre, en comparant les concentrations internes et externes de chaque espèce ionique. Pour les mesurer, il suffit d'utiliser un milieu externe où l'un des ions a été remplacé par un isotope radioactif de demi-vie élevée, d'attendre assez longtemps pour que la diffusion recycle complètement les ions internes à la cellule, puis d'ensuite mesurer le taux de radioactivité provenant du volume cellulaire (Läuger 1991, chap. 5).

La **figure 1.B2.3** illustre le résultat d'une telle expérience pour des cellules de mammifères et pour l'axone dorsal géant du calmar, l'espèce animale sur laquelle porte les travaux historiques que nous allons présenter à la sous-section 1.B3. D'une espèce animale à l'autre, d'un individu à l'autre et même d'un tissu biologique à l'autre au sein d'un même individu, les concentrations ont une certaine variabilité, comme presque toute mesure biologique. Cependant, on constate une «anomalie» qui est qualitativement *universelle* chez les animaux : le sodium est fortement hors d'équilibre, sa concentration externe étant supérieure d'un ordre de grandeur à sa concentration interne. Le potassium est lui aussi hors d'équilibre, étant trop concentré à l'intérieur, mais dans une moindre proportion.

	CELLULES DE MAMMIFÈRES		AXONE GÉANT DU CALMAR	
	concentration interne (mmol/L)	concentration externe (mmol/L)	concentration interne (mmol/L)	concentration externe (mmol/L)
K^+	139-150	4-5	400	20
Na^+	12-15	140-150	50	440
Cl^-	4-10	116-120	40-150	560
A^-	100-138	<<10	300-400	<<10

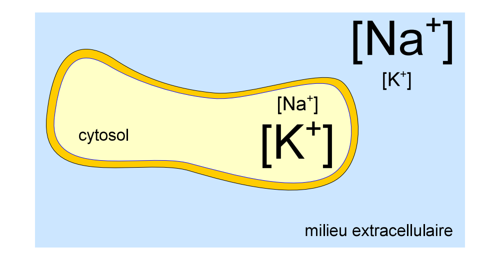


Figure 1.B2.3 D'une espèce à l'autre, les concentrations ioniques internes et externes diffèrent, mais on note toujours que le sodium et le potassium sont tous deux hors d'équilibre, le premier étant nettement plus concentré hors de la cellule, le second, à l'intérieur. Notez que A^- désigne les charges portées par les macromolécules. (Tableau de gauche adapté de Lodish 2000, chap. 15, Marieb 2010, chap. 11 et de Campbell 2007, chap. 48 ; tableau de droite : Lodish 2000, chap. 15 et Nelson 2008, chap. 11)

Pour les fins de la discussion et de la comparaison, il est souvent utile d'éliminer toute variabilité en considérant le cas d'une cellule en particulier. C'est ce qu'on fait les premiers électrophysiologistes en définissant un «axone standard» de calmar (Scott 2002, chap. 4). Faisons de même en considérant une cellule particulière pour laquelle on aurait un potentiel de repos $V_0 = -64$ mV, des concentrations internes de 400, 50 et 52 mmol/L, respectivement pour le potassium, le sodium et le chlore, ainsi que des concentrations externes de 20, 440 et 560 mmol/L pour les mêmes espèces ioniques. Dans nos travaux de recherche, nous utilisons un modèle où ces trois seuls ions sont suffisants pour décrire l'excitabilité d'un neurone ; les autres ions sont donc ignorés (voir la sous-section 1.B3).

Pour cette axone de calmar particulier, on constate en utilisant l'équation 1.B2.1 que E_{Na}= 56 mV, que E_K = −77 mV et que E_{Cl} = −61 mV (à la température de la pièce). Or, le potentiel de repos étant V_0 = −64 mV, on en déduit que seul le chlore est approximativement à l'équilibre, le sodium et le potassium étant fortement en déséquilibre. Notons que ces deux déséquilibres ne sont pas équivalents : puisque V_0 est nettement plus éloigné de E_{Na} que de E_K, c'est le sodium qui est en plus fort déséquilibre. Cela correspond à l'«anomalie» que nous avons soulevé plus haut.

Terminons en anticipant légèrement sur la sous-section 1.B3 : si la membrane était capable d'augmenter subitement sa perméabilité au sodium, on assisterait à un soudain courant de cette espèce ionique, ce qui modifierait rapidement le potentiel de membrane *V* de façon à l'approcher de E_{Na}. C'est une partie de ce qui se passe quand une cellule excitable produit un potentiel d'action.

1.B2.6 Les pompes Na/K sont l'origine principale du potentiel de repos

Un peu comme à la figure 1.B2.1, les différences de concentrations présentées à la figure 1.B2.3 ont pour effet de charger la membrane et donc de causer le potentiel de repos. En élucider l'origine équivaut donc à élucider celle du potentiel de repos. Attelons-nous à cette tâche.

Un premier constat doit sauter aux yeux : l'accumulation de sodium hors de la cellule ou de potassium dans la cellule peut être vue comme une organisation de ces ions, c'est-à-dire une diminution de leur entropie. En d'autres termes, cette accumulation est *défavorisée* par la tendance naturelle à la croissance de l'entropie du système. Elle ne peut donc se faire spontanément et *nécessite une dépense d'énergie libre* pour se produire.

Inévitablement, on doit conclure que la cellule dispose d'un *mécanisme moléculaire de pompage* permettant de faire traverser les ions Na^+ et K^+ au travers de la membrane en sens *inverse* de leur écoulement spontané, c'est-à-dire dans le sens contraire du courant donné par l'équation 1.B2.4. Après que le déséquilibre du Na^+ et du K^+ ait conduit à la postulation d'un mécanisme moléculaire de pompage, ce dernier a été isolé et étudié, comme nous le verrons à la section 1.C : il s'agit d'une protéine, appelée **pompe Na/K**, dont nous avons déjà évoqué plusieurs fois l'existence dans la section 1.A, et qui utilise l'énergie tirée de l'hydrolyse d'une molécule d'ATP pour alimenter son action de pompage. En revanche, la pompe stocke de l'énergie sous forme de gradients de concentrations. (Ces gradients sont d'ailleurs la source d'énergie nécessaire aux potentiels d'action.)

Nous discuterons plus amplement du fonctionnement et des effets de la pompe Na/K dans la section 1.C. Pour le moment, il suffit de savoir qu'à chaque molécule d'ATP qu'elle consomme, une pompe Na/K expulse normalement trois ions Na^+ de la cellule et y fait entrer deux ions K^+ (voir la figure 1.C1.2). Des erreurs sont possibles mais très peu fréquentes dans des conditions physiologiques normales. En conséquence, la population de pompes située dans une membrane produit des courants dans le rapport suivant (le signe négatif indiquant les sens opposés) :

$$J_{\text{Na,pmp}} = -\frac{3}{2} J_{\text{K,pmp}} \qquad \text{(équation 1.B2.8)}$$

Cela signifie que le courant net J_{pmp} produit par la population de pompes Na/K est positif, c'est-à-dire qu'il est dirigé vers l'extérieur de la cellule. Il a donc un effet hyperpolarisant.

Soulignons que l'existence de cette pompe *élucide maintenant complètement l'origine du potentiel de repos* : il est majoritairement attribuable aux déséquilibres causés par l'action de pompage de la pompe Na/K. En effet, il serait nettement plus faible si la cellule pouvait être à l'équilibre de Donnan (environ −10 mV, tel que calculé ci-dessus, au lieu des quelques −70 mV que nous observons). Ceci peut être confirmé expérimentalement de façon directe en utilisant un inhibiteur qui bloque l'action des pompes et en mesurant la dépolarisation de la membrane qui s'en suit (Jacob 1987).

1.B2.7 Les conductances de la membrane déterminent le potentiel de repos

Maintenant que nous avons établi qu'il existe un lien entre le potentiel de repos, les pompes et le déséquilibre des concentrations de Na^+ et K^+, nous allons terminer la sous-section 1.B2 en étudiant quantitativement ce lien. Plus précisément, nous souhaitons étudier divers modèles qui permettent d'estimer la valeur du potentiel de repos si on connaît les concentrations ioniques et la conductance de la membrane à chaque espèce ionique.

Si la cellule était à l'équilibre de Donnan, la solution serait simple V_0 correspondrait à E_{Na} et à E_K. Ce n'est toutefois pas le cas dans une cellule réelle.

En revanche, on sait qu'une cellule réelle a un potentiel de repos constant. Or, si un courant total non nul traversait la membrane, ce dernier aurait pour effet de charger ou de décharger sa capacité, donc de modifier *V*. En effet, comme nous l'avons soulevé dans la sous-section 1.B1, seulement un transfert net de 10^{-12} mol/cm^2 est requis pour produire changement de potentiel de membrane de plusieurs dizaines de millivolts et cela est un processus rapide. En conséquence, on en déduit que le courant total doit être *parfaitement* nul quand la membrane est au repos.

Le courant total est composé de la somme des courants ioniques passifs donnés par l'équation 1.B2.4 et du courant de pompe :

$$J_{\text{total}} = \sum_{X} g_X (V - E_X) + J_{\text{Na,pmp}} + J_{\text{K,pmp}} \qquad \text{(équation 1.B2.9)}$$

Au repos, $V = V_0$ et l'équation ci-dessus devient :

$$\sum_{X} g_X (V_0 - E_X) + J_{\text{Na,pmp}} + J_{\text{K,pmp}} = 0 \qquad \text{(équation 1.B2.10)}$$

Notre objectif étant d'identifier les variables qui ont le plus d'influence sur la valeur de V_0, nous utilisons deux approches de modélisation distinctes pour simplifier l'équation 1.B2.10 : la première est un cas quasi-stationnaire et la seconde, un cas stationnaire (voir figure 1.B2.4).

Modèles de la membrane quasi-stationnaire. Une première approche consiste à tenir compte du résultat expérimental voulant que le courant de pompes soit nettement plus

faible que les courants ioniques et donc à négliger les deux derniers termes du membre de gauche de l'équation 1.B2.9. Cette dernière devient donc $\sum_{X} g_X (V_0 - E_X) = 0$. En isolant V_0, on obtient :

Potentiel de repos, cas linéaire quasi-stationnaire

$$V_0 = \frac{\sum_{X} g_X E_X}{\sum_{X} g_X} \quad \text{(équation 1.B2.11)}$$

Cette équation est particulièrement révélatrice : elle montre que le potentiel de repos est une moyenne pondérée des potentiels d'inversion, dans laquelle les poids sont les conductances de la membrane à chaque type d'ion.

Nous avons déjà souligné que l'«anomalie» du sodium, c'est-à-dire le fait que la différence $|V_0 - E_{Na}|$ est très élevée, nettement supérieure à $V_0 - E_K$. On en déduit maintenant que la conductance du potassium est sans doute nettement supérieure à celle du sodium, puisque V_0 est nettement plus proche de E_K que de E_{Na}, ce qui implique que E_K doit être multipliée par un poids important dans la moyenne pondérée de l'équation 1.B2.11. Les mesures confirment cette idée : dans leurs travaux pionniers, Hodgkin et Katz ont déterminé que, dans un axone de calmar au repos (Hodgkin 1949, table 7 ; voir aussi Nelson 2008, chap. 11) :

$$g_K \approx 25 g_{Na} \approx 2 g_{Cl} \quad \text{(équation 1.B2.12)}$$

Ces valeurs sont valides quand V est au repos ou à proximité du repos[13].

En utilisant l'équation 1.B2.12 ainsi que les concentrations expérimentales typiques données à la figure 1.B2.3, on peut tester la validité de l'équation 1.B2.11 sur le plan quantitatif : dans le neurone de calmar particulier identifié sous la figure 1.B2.3, on avait E_{Na} = 56 mV, E_K = −77 mV et E_{Cl} = −61 mV. Par conséquent, l'équation 1.B2.11 donne $V_{0,\text{prédit}}$ = −68 mV. On constate que cette valeur prédite s'approche de la valeur expérimentale $V_{0,\text{exp}}$ = −64 mV mesurée dans ce neurone particulier.

On pourrait penser que l'écart entre les valeurs prédite et mesurée de V_0 découle du fait qu'on a négligé le courant des pompes, mais il n'en est rien : comme nous l'avons annoncé, l'effet électrogène des pompes est hyperpolarisant ; il s'ensuit que son effet serait de faire baisser $V_{0,\text{prédit}}$ davantage, l'éloignant encore plus de $V_{0,\text{exp}}$. (On peut le vérifier facilement : si on avait conservé le courant des pompes, le numérateur de l'équation

[13] Pour obtenir cette mesure, Hodgkin et Katz ont isolé chaque rapport dans l'équation 1.B2.11, ce qui signifie que notre raisonnement semble cyclique. Néanmoins, on peut mesurer les valeurs de g_X en utilisant de nombreuses autres méthodes : par exemple, on peut mesurer le taux d'écoulement d'une espèce ionique X en fonction de $V - E_X$, comme Hodgkin le fait dans un autre article (Hodgkin 1952b). On peut aussi mesurer directement le courant grâce à la technique du «patch clamp» (voir sous-section 1.B3)

1.B2.11 deviendrait $\sum_X g_X E_X - J_{pmp}$, où $J_{pmp} = J_{Na,pmp} + J_{K,pmp.} > 0$.) Par conséquent, l'erreur de prédiction de l'équation 1.B2.11 est due à l'hypothèse voulant que les courants ioniques soient quasi-ohmiques (équation 1.B2.4).

On peut vérifier cela en répétant le raisonnement ci-dessus en utilisant une équation non ohmique à la place de l'équation 1.B2.4. On obtient alors, à la place de l'équation 1.B2.11, l'équation suivante, appelée *équation de Goldman-Hodgkin-Katz* (voir l'appendice B) :

Potentiel de repos, cas non-ohmique quasi stationnaire

$$V_0 = \frac{k_B T}{e} \ln \frac{\sum\limits_{\substack{\text{ions}\\\text{positifs}}} g_X c_{ext,X} + \sum\limits_{\substack{\text{ions}\\\text{négatifs}}} g_X c_{int,X}}{\sum\limits_{\substack{\text{ions}\\\text{positifs}}} g_X c_{int,X} + \sum\limits_{\substack{\text{ions}\\\text{négatifs}}} g_X c_{ext,X}} \qquad \text{(équation 1.B2.13)}$$

Considérons à nouveau le cas du neurone de calmar particulier considéré sous la figure 1.B2.3, pour lequel on mesure des concentrations internes de 400, 50 et 52 mmol/L, respectivement pour le potassium, le sodium et le chlore, ainsi que des concentrations externes de 20, 440 et 560 mmol/L pour les mêmes espèces ioniques. Si $g_K \approx 25 g_{Na} \approx 2 g_{Cl}$, l'équation 1.B2.13 prédit que cette membrane a un potentiel de repos $V_{0,prédit} = -61$ mV. Cette fois, le résultat est supérieur à la valeur expérimentale de −64 mV au lieu d'y être inférieur, mais l'écart demeure comparable.

Notons que les équations 1.B2.9 et 1.B2.11 permettent aussi de décrire le cas simple où une membrane artificielle n'est perméable à un seul type d'ion. Par exemple, c'était le cas à la figure 1.B2.1 où seule la conductance g_{Na} était non nulle. En posant $g_K = g_{Cl} = 0$, l'équation 1.B2.9 se réduit de façon triviale à $V_0 = E_{Na}$. De même, le membre de droite de l'équation 1.B2.11 se réduit à celui de l'équation de Nernst (équation 1.B2.1), qui donne aussi E_{Na}.

Les équations 1.B2.9 et 1.B2.11 ont toutes deux produit des prédictions qui s'écartent de la valeur mesurée par le même écart absolu. Malgré les apparences, la prédiction de l'équation 1.B2.11 est meilleure que celle de l'équation 1.B2.9. En effet, le courant des pompes Na/K a un effet hyperpolarisant. Tenir compte de ce courant supplémentaire devrait donc rendre chacune de nos deux prédictions plus négative, approchant celle de l'équation 1.B2.11 de la valeur mesurée, mais éloignant celle de l'équation 1.B2.9.

Modèle de la membrane stationnaire à deux types d'ions. Les équations 1.B2.11 et 1.B2.13 sont des modèles quasi-stationnaires car la présence de courants ioniques, même si ces derniers s'annulent entre eux de façon à former un courant total nul, cause quand même un très lent transfert de chaque espèce ionique au travers de la membrane. Ce transfert affecte surtout les ions Na^+ et K^+, qui ont les courants les plus élevés (le courant $J_{Cl} \approx 0$ car $V \approx E_{Cl}$). Dans les équations 1.B2.11 et 1.B2.13, ce lent transfert n'est compensé par aucun mécanisme de pompage car on y a supposé que $J_{Na,pmp} \approx J_{K,pmp} \approx 0$.

On peut améliorer notre prédiction fondée sur l'équation 1.B2.11 en modifiant nos hypothèses pour tenir compte aussi des effets à très long terme. Pour ce faire, on doit non seulement respecter l'équation 1.B2.10, mais aussi s'assurer que les concentrations de Na^+ et K^+ sont stables de chaque côté de la membrane, ce qui requiert $J_{Na} + J_{Na,pmp} = 0$ et $J_K + J_{K,pmp} = 0$, c'est-à-dire :

$$\begin{cases} g_{Na}(V_0 - E_{Na}) + J_{Na,pmp} = 0 \\ g_K(V_0 - E_K) + J_{K,pmp} = 0 \end{cases} \qquad \text{(équation 1.B2.14)}$$

Cette fois, notre hypothèse simplificatrice sera que tous les courants ioniques autres que ceux de Na^+ et de K^+ sont négligeables (notamment, $J_{Cl} \approx 0$).(Dans une cellule réelle, il y a de nombreux mécanismes de transport qui régulent les concentrations de ces autres ions.) Grâce à cette hypothèse, les équations 1.B2.14 sont les seules conditions à respecter pour que la membrane soit stationnaire. La **figure 1.B2.4** compare visuellement ces hypothèses à celles que nous avons utilisées pour obtenir les équations 1.B2.11 et 1.B2.13.

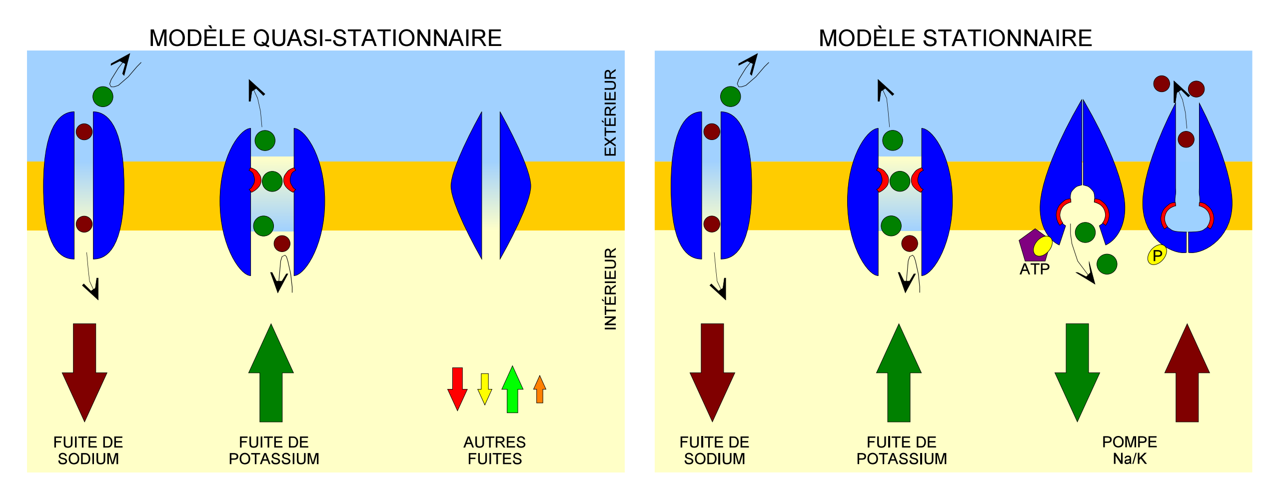


Figure 1.B2.4 Dans tous les modèles de membrane au repos, le courant total est nul. Toutefois, seuls les modèles stationnaires présentent un flux total nul pour chaque espèce ionique. Le fonctionnement moléculaire des canaux et des pompes Na/K sera traité dans la section 1.C.

En substituant les équations 1.B2.14 dans l'équation 1.B2.8, on obtient directement que $-g_{Na}(V_0 - E_{Na}) = \frac{3}{2} g_K (V_0 - E_K)$, donc que :

<u>Potentiel de repos, cas linéaire stationnaire à deux types d'ions</u>

$$V_0 = \frac{g_{Na}E_{Na} + \frac{3}{2} g_K E_K}{g_{Na} + \frac{3}{2} g_K} \qquad \text{(équation 1.B2.15)}$$

On peut tester la validité de l'équation 1.B2.15 sur le plan quantitatif : avec les valeurs utilisées pour l'équation 1.B2.11, soit E_{Na} = 56 mV, E_K = −77 mV et $g_K \approx 25 g_{Na}$, l'équation 1.B2.15 donne $V_{0,\text{prédit}}$ = −73 mV.

Comme dans le cas de l'équation 1.B2.11, l'écart entre cette prédiction et la valeur mesurée de −64 mV est dû à l'utilisation de l'hypothèse quasi-ohmique, c'est-à-dire l'équation 1.B2.4, pour décrire le courant de chaque espèce ionique. Si on utilise plutôt l'équation Goldman-Hodgkin-Katz pour les courants (équation AppB.12), on obtient plutôt que :

Potentiel de repos, cas non ohmique stationnaire à deux types d'ions

$$V_0 = \frac{k_B T}{e} \ln \frac{\frac{3}{2} g_K c_{ext,K} + g_{Na} c_{ext,Na}}{\frac{3}{2} g_K c_{int,K} + g_{Na} c_{int,Na}} \qquad \text{(équation 1.B2.16)}$$

Avec le neurone de calmar habituel où $g_K \approx 25 g_{Na}$, où les concentrations internes sont de 400 et 50 mmol/L, respectivement pour le potassium et le sodium, et les concentrations externes, de 20 et 440 mmol/L pour les mêmes espèces ioniques, cette équation donne $V_{0,prédit} = -64$ mV, ce qui correspond de près à la valeur expérimentale. La petite différence est due au fait que nous avons négligé les courants d'ions autres que Na^+ et K^+.

Conductance variables. De toute la discussion sur la détermination de V_0, retenons surtout l'équation 1.B2.11 car elle fournit une intuition précieuse : en général, *V_0 est plus proche du potentiel d'inversion E_X correspondant à l'ion X pour lequel la membrane a la conductance la plus élevée*.

En conséquence, si la membrane pouvait subitement augmenter g_{Na} d'une façon substantielle, son potentiel s'équilibrerait à une nouvelle valeur qui serait bien plus proche de E_{Na}. On assisterait donc à une montée rapide de V. Comme nous le verrons à la sous-section 1.B3 qui débute maintenant, une telle augmentation de g_{Na} et la croissance rapide de V qui s'en suit *est ce qui initie un potentiel d'action*. (Notons que g_{Na} ne conserve pas sa «valeur élevée» suffisamment longtemps pour que V puisse atteindre l'équilibre prédit par l'équation 1.B2.11. Néanmoins, on observe que la valeur instantanée V conserve *toujours*[14] *une valeur intermédiaire entre E_{Na} et E_K*, conformément à cette dernière équation.)

1.B3) Potentiel de membrane dans les cellules excitables

Dans la sous-section 1.B1, nous avons conceptualisé la différence entre les membranes non excitables et les membranes qui, comme celles des neurones, sont excitables. Ensuite, dans la sous-section 1.B2, nous avons décrit en détail les membranes non excitables. Cet exercice a été pertinent puisque les neurones au repos possèdent bien des caractéristiques d'une cellule non excitable. Par exemple, on y trouve des pompes Na/K et des gradients de concentrations ioniques, ainsi qu'un potentiel de repos qui est déterminé par les conductances de la membrane au repos de la même façon que celui des cellules non excitables (équation 1.B2.11). De plus, l'équation 1.B2.4 qui permet de calculer le courant d'une espèce ionique quand son potentiel d'inversion diffère du potentiel de membrane demeure applicable dans les cellules excitables. Nous considérerons qu'elle est valide tant au repos que pendant un potentiel d'action.

---

[14] Ce «toujours» n'est valide que si les hypothèses qui fondent l'équation 1.B2.11 le sont aussi. En réalité, il existe des circonstances exceptionnelles où le courant de pompes peut momentanément dominer les autres courants (ex : Florence 2009) ; son effet hyperpolarisant peut donc conduire V à occuper temporairement une valeur inférieure à E_K.

Dans cette sous-section 1.B3, nous allons compléter notre exposé des outils permettant de comprendre le fonctionnement d'un axone intact et fonctionnel. Pour ce faire, nous débuterons en présentant des mesures expérimentales ayant historiquement permis de modéliser la façon dont les conductances au sodium et au potassium dépendent du potentiel de membrane mais aussi du temps, à une époque où on ignorait tout de l'existence de canaux tensiodépendants. Cela nous conduira à présenter le modèle Hodgkin-Huxley («modèle HH») qui décrit le mécanisme du potentiel d'action et que nous utilisons dans nos travaux de recherche. Après l'avoir comparé à quelques autres modèles, nous conclurons en montrant comment le modèle HH, d'abord formulé à partir de mesures réalisées chez le calmar, peut être assez simplement adapté pour décrire un potentiel d'action chez un vertébré ; en particulier, nous présenterons l'effet de la myélinisation.

1.B3.1 Survol des méthodes expérimentales

À la figure 1.B1.2, nous avons esquissé un potentiel d'action tel qu'on pourrait le mesurer grâce à une électrode intracellulaire. Avant l'invention de cette technique, on pensait qu'il se produisait en raison d'une baisse temporaire de l'imperméabilité de la membrane. Si c'était le cas, toutefois, toutes les conductances ioniques deviendraient de valeurs comparables (et élevées). Or, dans un tel cas, l'équation 1.B2.10 indique que le potentiel de membrane tendrait essentiellement vers zéro et non vers une valeur d'environ 40 mV.

C'est grâce à l'équipement électronique perfectionné par Hodgkin, Huxley et Katz (Hodgkin 1952a) à l'époque de la Seconde Guerre mondiale que l'amplitude du potentiel d'action a pu être déterminée avec davantage de précision. C'est aussi cet équipement qui a permis de confirmer que son mécanisme est attribué, comme nous le verrons, à une entrée d'ions Na^+ suivie d'une sortie d'ions K^+ (Hodgkin 1952b). Nous allons d'abord présenter cet équipement et la façon dont il a pu être utilisé pour mesurer et distinguer les courants dus à chaque espèce ionique.

La conductance de la membrane peut être déterminée en inversant l'équation 1.B2.4, $g_X = J_X / (V - E_X)$, mais cela nécessite de connaître simultanément le courant J_X et le potentiel de membrane V. L'innovation technologique de l'équipe de Hodgkin a été d'insérer à cette fin *deux* électrodes dans un axone géant de calmar (dont la largeur est suffisante pour le permettre). Comme le montre la **figure 1.B3.1**, la première électrode sert à injecter le courant requis pour maintenir le potentiel de membrane à une valeur déterminée par l'expérimentateur. Cette technique où on impose la tension est dite **voltage clamp** dans la littérature. On évite d'utiliser la même électrode aussi pour mesurer V, car l'injection de courant cause une chute de tension dans la résistance de l'axoplasme. Il y a donc une seconde électrode

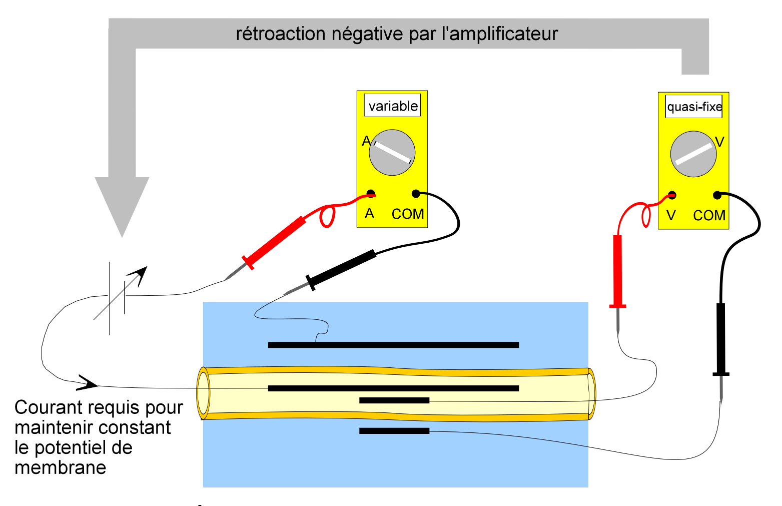


Figure 1.B3.1 Électrodes utilisées par Hodgkin et Huxley pour réaliser leur *voltage clamp* et leur *space clamp* ; illustration conceptuelle de l'effet de l'amplificateur.

qui sert à mesurer le potentiel de membrane. La longueur de cette électrode permet aussi de maintenir V uniforme le long de l'axone. Quand la membrane est ainsi isopotentielle, on dit qu'elle subit un **space clamp**. L'avantage de cette technique : les mesures prises sur l'axone entier deviennent équivalentes à celles qu'on obtiendrait sur une portion infinitésimale d'une membrane où V serait libre de dépendre de la position.

Isoler le courant de chaque espèce ionique. La technique de base utilisée dans Hodgkin 1952b consiste à faire faire un saut brutal au potentiel de membrane V (en modifiant la valeur cible de l'amplificateur effectuant le voltage clamp) et à mesurer le courant de réponse qui s'en suit. Ce courant de réponse ressemble à celui qui s'écoulerait pendant une étape donnée d'un potentiel gradué ou d'un potentiel d'action, selon l'intensité du saut imposé à V. En outre, on observe qu'il est nettement plus important que les petits courants de fuite de chaque espèce ionique qui s'écoulent quand le neurone est au repos.

En vertu d'expériences précédentes (Hodgkin 1949), Hodgkin et Huxley supposaient le sodium et le potassium étaient les deux seules espèces ioniques responsables de ce courant de réponse, du moins chez le calmar. Le courant total traversant[15] la membrane pouvait donc être modélisé comme la somme de trois composantes : celle du sodium, celle du potassium et celle de toutes les autres espèces ioniques confondues (notamment Cl^-), les courants de pompes étant négligés. L'usage veut que ce courant des «autres espèces ioniques» soit appelé *courant de fuite*, J_{fuites}, si bien qu'on écrit :

Courants dans le modèle Hodgkin-Huxley

$$J_{total} = J_{Na} + J_K + J_{fuites} \qquad \text{(équation 1.B3.1)}$$

Considérant l'importante concentration d'ions Cl^- (voir figure 1.B2.3), on peut considérer que le courant de fuites est composé essentiellement de cette espèce ionique.

L'équipement de Hodgkin et Huxley ne leur permettait que de mesurer le courant *total* qui traverse la membrane, c'est-à-dire le membre de gauche de l'équation 1.B3.1. Pour identifier séparément le courant de sodium et le courant de potassium, ils ont d'abord supposés que ces deux courants prennent, pendant la réponse à une excitation, une valeur nettement plus élevée que celle du courant de fuites. Immédiatement après un saut brutal de V, on peut donc estimer que $J_{total} \approx J_{Na} + J_K$ (Hodgkin 1952b, p. 461).

Ensuite, ils ont répété l'expérience en modifiant la concentration en sodium de la solution extracellulaire[16], de façon à affecter la valeur de E_{Na}. Il devint donc possible de séparer le courant total en deux composantes, l'une qui dépend de la concentration externe de sodium et l'autre qui n'est pas affectée par elle. En supposant que ces deux composantes

---

[15] Lors d'un saut de voltage clamp, le courant total mesuré comporte aussi un bref pic dû au mouvement des ions qui doivent charger la capacité électrique de la membrane à son nouveau potentiel V. Ce pic est ignoré et retiré dans la figure 1.B3.2, qui ne concerne que les courants *traversant* la membrane.

[16] Les ions sodium étaient remplacés par une autre espèce ionique, la choline, dont la taille est telle que la membrane y est complètement imperméable. Ce remplacement permettait cependant de conserver la pression osmotique. Le potentiel de repos était légèrement décalé avec la choline mais les valeurs utilisées pour les sauts du potentiel de membrane étaient ajustées en conséquence.

sont indépendantes l'une de l'autre, on déduit donc que la première correspond essentiellement à J_{Na} et la seconde, à J_K.

La **figure 1.B3.2** présente un exemple de résultat obtenu avec cette méthode. On y constate déjà deux observations fondamentales, qui seront cruciales lorsque nous modéliserons les deux courants dans les prochains blocs.

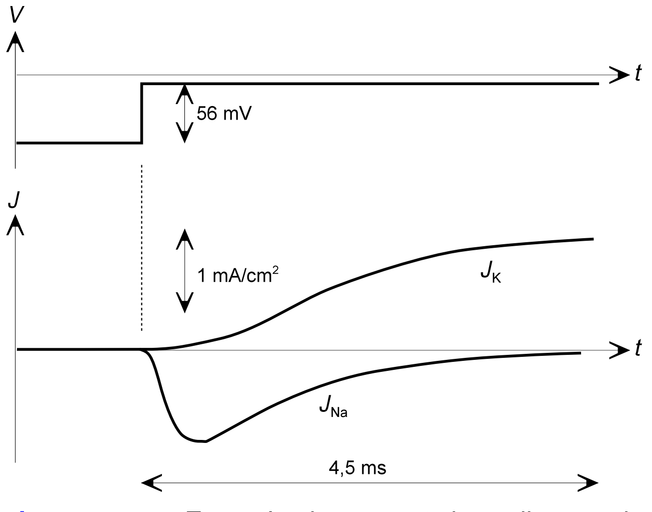


Figure 1.B3.2 Exemple de courant de sodium et de potassium en réaction à un saut de voltage clamp. (Figure adaptée de Hodgkin 1952b, Fig. 5b)

Premièrement, on note une différence importante entre le courant de potassium, qui augmente lentement vers un plateau, alors que le courant de sodium atteint un sommet et redevient nul *et ce même si V ne change plus du tout*.

Deuxièmement, on constate d'importantes différence de délai de réponse : la croissance initiale de J_{Na} est environ 10 fois plus rapide que celle de J_K. En revanche, le retour à zéro de J_{Na} se produit à un rythme comparable à celui de la croissance de J_K. Ces comparaisons entre les constantes de temps permettront d'importantes simplifications, comme nous le verrons au bloc 1.B3.3.

Méthodes modernes. La méthode développée par Hodgkin et son équipe nécessite d'insérer deux électrodes longues de plus de 30 mm à l'intérieur d'un axone. En pratique, cette technique n'est inapplicable qu'aux axones énormes qu'on retrouve chez de rares invertébrés (dont le calmar). La technique du **patch clamp**, qui met fin à cette limitation et est d'usage aujourd'hui, a été inventée au début des années 1970 (Neher 1976) et perfectionnée par la suite (Hamill 1981).

La technique du patch clamp est un raffinement du voltage clamp où on utilise une micropipette (dont l'ouverture est d'environ un micromètre) non pas pour perforer la membrane mais pour l'appuyer dessus en appliquant une faible succion, comme le montre la **figure 1.B3.3**. En adhérant étroitement à la micropipette, un peu comme le ferait une bulle de savon, la membrane forme un sceau dont la résistance est de l'ordre du gigohm (GΩ). Le fragment de membrane situé dans la pipette (la «patch» qui donne son nom à la technique) est donc *isolée de l'extérieur*. Cette variante de patch clamp est dite le **mode cellule attachée**.

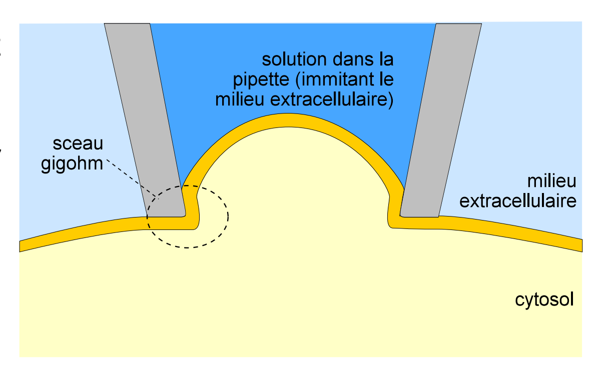


Figure 1.B3.3 Technique du patch clamp (version cellule attachée) ; le sceau gigohm formé par l'adhésion de la membrane à la pipette isole le fragment interne de membrane et permet de mesurer le courant qui le traverse.

En mode *cellule attachée*, la préparation du fragment de membrane est complète dès que

le sceau gigohm s'est formé. On peut ensuite, en insérant une électrode dans la solution que contient la pipette, faire des mesures du courant *qui traverse ce seul fragment de membrane.*

L'avantage de cette technique est de pouvoir sélectionner une portion de membrane suffisamment petite pour qu'il ne s'y trouve que quelques canaux ioniques, voire un seul d'entre eux[17]. On peut alors mesurer directement le courant d'*une seule espèce ionique* en réaction à un saut du potentiel de membrane, ce qui confirme les mesures présentées à la figure 1.B3.2 (Patlak 1986, voir aussi Hille 2001). (Nous verrons à la section 1.C que les canaux ont un comportement stochastique. En conséquence, pour obtenir une courbe comme celle de la figure 1.B3.2 grâce à un patch clamp, il faut faire la moyenne d'un grand nombre d'essais).

La technique du patch clamp en mode cellule attachée est aussi celle qui a été utilisée par Wang 2009 pour mesurer le décalage cinétique de canaux Na_V (tensiodépendants au sodium) dans une membrane endommagée, résultat expérimental qui fonde l'hypothèse générale des travaux de notre groupe de recherche (voir le chapitre 3).

Les variantes du patch clamp. Dans trois variantes de la technique, on peut appliquer de la succion ou tirer la micropipette après la formation du sceau, mais avant de faire des mesures. Selon la séquence de ces manipulations supplémentaires, on distingue les modes *cellule entière*, *intérieur exposé* et *extérieur exposé*, comme le montre la **figure 1.B3.4**.

En **mode cellule entière**, «whole-cell mode», on commence par former le sceau gigohm et on applique ensuite une forte saccade de succions de façon à rompre la membrane. L'intérieur de la pipette est ainsi en contact avec le cytosol, comme ce serait le cas si on avait utilisé une microélectrode comme à la figure 1.B1.1. On profite toutefois d'une électrode de beaucoup plus gros diamètre, donc de plus faible résistance. (Une autre possibilité conduisant à une configuration analogue est de perforer partiellement la membrane par des moyens chimiques ; ce patch clamp est dit en **mode cellule perforée**, «perforated patch»).

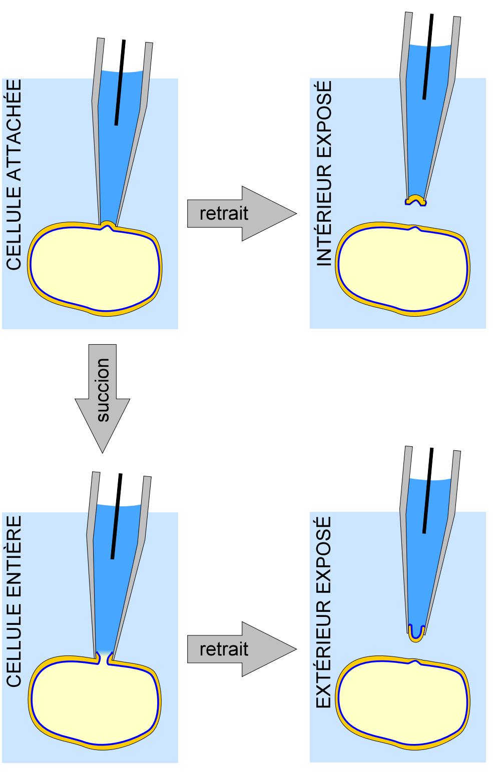


Figure 1.B3.4 Les différents modes de patch clamp permettent des mesures ou des manipulations différentes. (Figure inspirée de Hamill 1981)

Le **mode intérieur exposé**, «inside out», s'obtient à partir du mode cellule attachée, en tirant d'un coup sec sur la micropipette, afin d'arracher de la cellule le

[17] Pour s'assurer d'obtenir le type de canal qu'on souhaite mesurer, une technique expérimentale consiste à introduire l'ADN codant pour ce canal dans une cellule où il n'y a normalement pas de canaux tension dépendants, par exemple un oeuf de grenouille ou une cellule embryonnaire de rein («HEK cell»). En le faisant s'exprimer massivement à cet endroit et en inhibant les autre s canaux, on est certain que les courants mesurés en réponse à un saut du potentiel de membrane sont attribués au canal recherché.

fragment de membrane lié à l'ouverture de la micropipette. L'avantage est que le côté intracellulaire de la membrane devient exposé à la solution expérimentale, ce qui permet d'y introduire des ligands, des inhibiteurs ou tout autre composé qui se lie du côté cytosolique des protéines membranaires.

Enfin, le **mode extérieur exposé**, «outside out», s'obtient à partir du mode cellule entière, encore une fois en tirant d'un coup sec sur la micropipette. Cette opération étire la membrane, qui se referme spontanément sur la micropipette au moment où elle se rompt (un peu comme un film d'eau savonneuse se referme spontanément après qu'on ait soufflé dessus). Cette fois, le côté exposé est le côté extracellulaire.

Il est à noter que certains modes ont pour effet d'étirer et d'endommager la membrane qui est soumise à la mesure, alors que d'autres non. Nous reviendrons au chapitre 3 sur l'effet des membranes endommagées sur le comportement des canaux, mais soulignons dès à présent qu'il faut prendre avec précaution certains résultats publiés, en envisageant la possibilité que les dommages imposés aux membranes aient influencé les mesures, ce dont les auteurs n'étaient pas toujours conscients (Boucher 2011, Figure 3.22).

Maintenant que nous avons présenté les méthodes expérimentales, nous revenons aux mesures historiques de Hodgkin et Huxley faites sur les axones de calmar, mais gardons en tête qu'il est aujourd'hui possible à la fois de les reproduire avec des techniques plus modernes et de les interpréter en termes de canaux ioniques.

1.B3.2 Le modèle Hodgkin-Huxley

À partir de leurs mesures, Hodgkin et Huxley ont construit un modèle expliquant quantitativement le mécanisme d'un potentiel d'action dans l'axone géant du calmar (Hodgkin 1952a,b,c,d,e). Dans ce bloc, nous présentons succinctement ce modèle qui porte aujourd'hui leur nom, une présentation plus détaillée pouvant être trouvée dans une multitude de manuels, notamment Scott 2002, Sterratt 2011 (chap. 3) ou Hille 2001 (chap. 2), de même que dans les cinq articles originaux, surtout le dernier[18].

Plus rigoureusement, nous devrions spécifier que le modèle Hodgkin-Huxley («modèle HH») a été construit pour expliquer un potentiel d'action dans une situation isopotentielle («space clamped»), où tout effet dû au délai de propagation le long de l'axone est éliminé. Nous allons toutefois constater, au bloc 1.B3.3, que le modèle HH peut quand même être utilisé pour comprendre la propagation le long de l'axone. Ce que nous présenterons dans ce bloc-ci peut donc être considéré comme un modèle de $V(t)$, le potentiel de membrane tel qu'il serait mesuré *en un point* d'un axone pendant le passage d'un potentiel d'action.

Indépendance des courants. La première étape du modèle HH est de supposer que le courant qui traverse la membrane est une superposition de trois composantes indépendantes, ce qu'exprime l'équation 1.B3.1. L'étape suivante est donc d'élucider la fonction décrivant chaque courant.

[18] Attention : dans ces articles, les potentiels de membrane sont exprimés par rapport au repos $V_0 \equiv 0$ et leur signe est inversé.

D'abord, comme les ratios c_{ext}/c_{int} sont faibles, on postule que chaque courant est donné par l'équation 1.B2.4. (Cela équivaut à négliger la rectification et à faire l'approximation linéaire décrite à la figure AppB.1.) Grâce à cette approximation, on peut représenter la membrane isopotentielle par le circuit de la **figure 1.B3.5** (où toute pompe est négligée et où les g_X ne sont pas constantes).

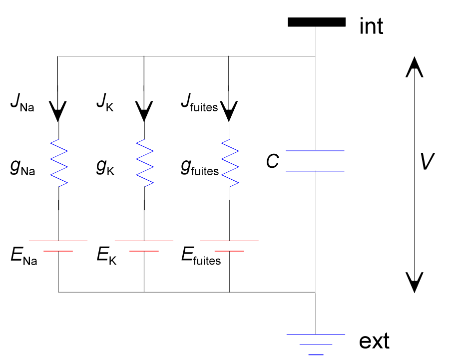


Figure 1.B3.5 Modèle électrique d'une membrane. (Figure adaptée de Hodgkin 1952e)

Dans ce circuit, chacune des trois branches de gauche dépeint un courant ionique traversant la membrane sous l'effet de la «force motrice» $V - E_X$. Le circuit montre que ces courants ont pour effet de charger la capacité électrique C de la membrane. Notez que, E_{Na} étant négatif, sa polarité est l'inverse de celle illustrée ; de même, J_{Na} s'écoule en sens inverse de la flèche.

Évidemment, cette analogie en circuit a ses limites. Par exemple, il est impossible de brancher une électrode «entre la résistance et la pile». Sa fonction est exclusivement d'illustrer l'indépendance des courants ioniques et d'illustrer l'équation suivante :

$$-C\,\tfrac{\mathrm{d}}{\mathrm{d}t}V = J_{Na} + J_K + J_{fuites} = g_{Na}(V - E_{Na}) + g_K(V - E_K) + g_{fuites}(V - E_{fuites})$$

(équation 1.B3.2)

où nous avons simplement dérivé $q = CV$ et substitué le courant total à la place de dq/dt. Le signe négatif découle d'une incohérence de conventions de signes, malheureusement répandue en électophysiologie : V est positif quand le potentiel interne est plus élevé que le potentiel externe, alors que les courants positifs sont ceux dirigés de l'intérieur vers l'extérieur. Ainsi, un courant positif *retire* de la charge du côté interne et fait décroître V.

Pour compléter le modèle HH, il ne reste donc plus qu'à déterminer la façon dont chaque conductance g_X dans l'équation 1.B3.2 dépend du potentiel de membrane (et, nous le verrons, du temps). Nous les considérons maintenant une par une.

Observations détaillées sur le potassium. Pour déterminer la façon dont la conductance g_K réagit à un saut de la valeur du potentiel de membrane, la méthode suivie dans Hodgkin 1952b,e consiste à répéter la mesure de $J_K(t)$ présentée à la figure 1.B3.2, c'est-à-dire de déduire le courant de potassium qui s'écoule suite à un saut du potentiel de membrane, qui passe de V_0 à $V_{fixé}$, mais en utilisant chaque fois une différente valeur pour $V_{fixé}$. On déduit ensuite g_K à partir de l'équation 1.B2.4, donc en calculant $g_K = J_K / (V - E_K)$ pour la courbe entière. La **figure 1.B3.6** présente le résultat d'une telle opération.

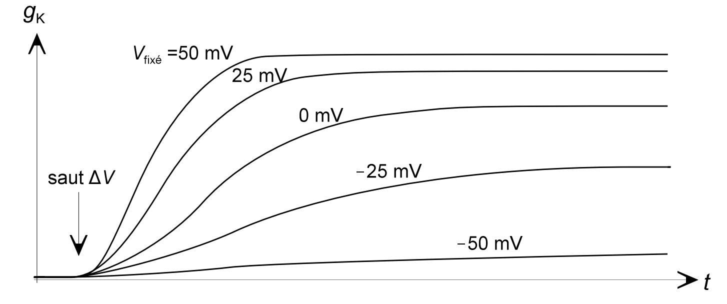


Figure 1.B3.6 Croquis d'une famille de courbes g_K qui seraient obtenues lors de différents sauts de voltage clamp. Les courbes sont tracées sur la base des mesures récapitulées dans Hodgkin 1952e (Fig. 3).

On constate sur la figure 1.B3.6 que la conductance g_K augmente quand V saute de V_0 à $V_{fixé}$, une caractéristique qu'on appelle son **activation** et qui n'est pas instantanée : un changement brutal de V ne produit *pas* un changement brutal de g_K ; il y a un délai de réponse. Cela impose de modéliser g_K à la fois comme une fonction du potentiel de membrane et du temps. Toutefois, on note que ce délai de réponse *est une fonction de V* : sur les courbes illustrées, plus $V_{fixé}$ est élevé et plus le délai de réponse est court.

Deuxièmement, on note qu'une fois le délai de réponse tout écoulé, chaque courbe de g_K atteint une valeur cible $g_{K\infty}$, c'est-à-dire le plateau dont nous avons déjà signalé la présence à la figure 1.B3.2. Ce plateau demeure tant que $V = V_{fixé}$. Si on restaure $V = V_0$, on assiste à une décroissance exponentielle où g_K tend à nouveau vers zéro, c'est la **désactivation**, non illustrée. De plus, on note que la valeur cible de l'activation, $g_{K\infty}$, *est elle aussi une fonction de V* : sur les courbes illustrées, plus $V_{fixé}$ est élevé et plus $g_{K\infty}$ est grand.

Précisons que $g_{K\infty}$ ne croît pas indéfiniment quand $V_{fixé}$ augmente : il s'approche asymptotiquement d'une valeur maximale. Dans Hodgkin 1952e, cette valeur maximale de $g_{K\infty}$ est estimée, pour un axone de calmar moyen (suivant les unités définies au bloc 1.B2.2), à

$$g_K^{max} = 36 \text{ mS/cm}^2$$

Par exemple, si on utilisait $V_{fixé}$ = 100 mV ou $V_{fixé}$ = 200 mV au lieu des valeurs plus faibles ayant produit les résultats illustrés à la figure 1.B3.6, on obtiendrait essentiellement dans les deux cas une courbe de $g_K(t)$ qui tend vers une valeur cible de $g_{K\infty} \approx 36$ mS/cm^2 : augmenter davantage $V_{fixé}$ ne permet plus de faire croître $g_{K\infty}$ perceptiblement.

Modéliser le courant de potassium. Hodgkin et Huxley n'avaient aucune idée de la composition d'une membrane et ne pouvait donc pas relier leurs mesures à un mécanisme moléculaire autre que spéculatif. Leur approche a donc été d'obtenir un modèle mathématique permettant de prédire g_K (et les autres courants).

Les mesures que nous venons de présenter indiquent que la proportion $p = g_K / g_K^{max}$ tend vers une valeur cible p_∞ avec une constante de temps τ. Un modèle mathématique séduisant et simple (mais malheureusement faux) consisterait à faire obéir p à une équation différentielle du premier ordre ayant la forme :

$$\frac{dp}{dt} = \frac{p_\infty - p}{\tau} \quad ? \qquad \text{(équation 1.B3.3)}$$

et où p_∞ et τ dépendent seulement du potentiel de membrane V. En effet, cette équation prédit que p croît quand il est inférieur à p_∞ et vice versa. Quand $V = V_{fixé}$, p_∞ et τ sont alors des constantes et l'équation 1.B3.3 prédit donc que p tend exponentiellement de ≈ 0 à p_∞ selon la fonction $p = p_\infty(1 - e^{-t/\tau})$.

Malheureusement, les courbes de la figure 1.B3.6 ne sont *pas* des exponentielles : on

constate que leur phase de croissance *contient un point d'inflexion*. Ce qui est encore plus surprenant est que la désactivation, elle, est pourtant une décroissance exponentielle vers $p_\infty \approx 0$ (obtenue si on fait faire au potentiel de membrane le saut en sens inverse de $V_{\text{fixé}}$ à V_0). L'équation 1.B3.3, qui donne $p = p_0 e^{-t/\tau}$ dans l'éventualité où $p_\infty = 0$, semble donc fonctionner seulement pour la désactivation et non pour l'activation.

Au lieu de remplacer l'équation 1.B3.3 par une équation d'un ordre plus élevé, inutilement plus complexe, Hodgkin et Huxley ont réalisé qu'une simplification importante pouvait être obtenue si la proportion p était exprimée comme $p = n^x$, où la quantité n, elle, obéit à l'équation 1.B3.3 (au lieu de p) et où l'exposant x demeure à déterminer. En effet, une telle hypothèse donnerait une courbe d'activation de la forme $p = p_\infty(1 - e^{-t/\tau})^x$, ce qui a la forme d'une sigmoïde donc présente le point d'inflexion voulu (**figure 1.B3.7**), tout en donnant une courbe d'inactivation de la forme $p = p_0(e^{-t/\tau})^x = p_0 e^{-xt/\tau}$, qui est toujours la forme exponentielle souhaitée (Hodgkin 1952e).

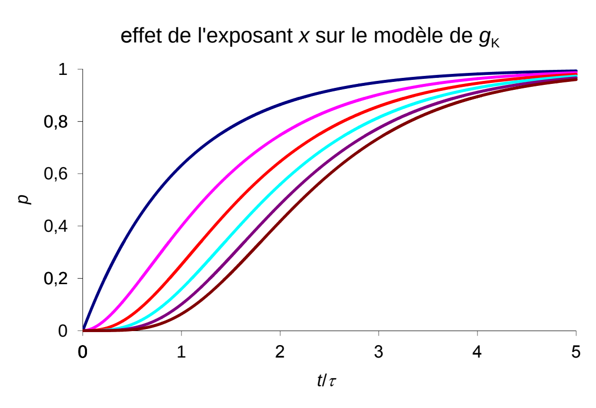


Figure 1.B3.7 Effet de l'exposant x sur la forme de la courbe de courant du potassium.

Par essais et erreurs, ils ont déterminé que la puissance $x = 4$ était celle qui donnait une courbe dont les proportions correspondait le mieux à celle de leurs données (voir la figure 1.B3.7), si bien qu'ils ont postulé que le courant du potassium est donné par :

Courant de potassium

$$J_K = \underbrace{g_K^{\max} n^4}_{g_K} (V - E_K) \qquad \text{(équation 1.B3.4)}$$

et

$$\frac{dn}{dt} = \frac{n_\infty - n}{\tau_n} \qquad \text{(équation 1.B3.5a)}$$

où, à une température fixe, n_∞ et τ_n dépendent seulement du potentiel de membrane : contrairement à n, ils changent instantanément de valeur quand V change. Comme le modèle HH néglige le courant de pompes, E_K est considéré comme constant et prend la valeur typique suivante (voir la figure 1.B2.3) :

$$E_K = -77 \text{ mV}$$

Interprétation physique. Bien qu'ils n'avaient aucune idée de la composition moléculaire d'une membrane, les auteurs de Hodgkin 1952e soulèvent que les deux équations ci-dessus gagnent une interprétation physique si on suppose que la traversée du potassium

au travers de la membrane ne peut s'effectuer que si des groupes de quatre «particules d'activation» similaires agissent comme des interrupteurs ou des portes indépendants qui doivent être tous dans la position «activée» pour que les ions puissent traverser. La variable *n* représente alors la proportion des particules d'activation qui est dans la position «activée».

Avec cette interprétation physique, il est utile de réécrire l'équation 1.B3.5a sous la forme :

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(1-n) - \beta_n n \qquad \text{(équation 1.B3.5b)}$$

où on peut facilement vérifier que $\alpha_n = n_\infty/\tau_n$ et $\beta_n = (1 - n_\infty)/\tau_n$ deviennent les deux variables qui dépendent instantanément de V (au lieu de n_∞ et τ_n). L'avantage de cette forme alternative de l'équation 1.B3.5a est d'évoquer la cinétique des transitions ayant lieu dans la réaction suivante, où α_n et β_n indiquent les taux de transition :

$$\text{particule dans l'état activé} \underset{\beta_n}{\overset{\alpha_n}{\rightleftharpoons}} \text{particule dans l'état désactivé} \qquad \text{(équation 1.B3.6)}$$

Le premier terme dans le membre de droite de l'équation 1.B3.5b exprime donc le rythme auquel les «particules d'activation» quittent l'état désactivé dont la population est $1 - n$, alors que le second terme exprime le rythme auquel elles quittent l'état activé, dont la population est n.

Comme nous le verrons à la section 1.C, cette interprétation physique historiquement formulée par Hodgkin et Huxley correspond assez bien au fonctionnement moléculaire des canaux tensiodépendants à K^+ dont ils ne connaissaient pourtant pas l'existence. On peut aujourd'hui considérer que n^4 est la proportion des canaux K_V qui sont activés, c'est-à-dire dans leur conformation ouverte au passage des ions, et que $1 - n^4$ est la proportion de ceux qui sont désactivés, c'est-à-dire dans leur conformation fermée.

Pour compléter l'équation 1.B3.5b, il ne manque que la dépendance en V des paramètres α_n et β_n. Les fonctions suivantes (dont la forme est arbitraire) forment une courbe de tendance qui représente bien les données expérimentales (voir, dans Hodgkin 1952e, la Fig. 4 et le texte s'y rapportant) :

$$\alpha_n = 0{,}01\frac{V+55}{1-e^{-\frac{1}{10}(V+55)}}$$
$$\beta_n = 0{,}125\,e^{-\frac{1}{80}(V+65)} \qquad \text{(équation 1.B3.7)}$$

où V est en millivolts. On note que les mesures expérimentales donnent n_∞ et τ_n et qu'on doit ensuite les convertir en α_n et β_n. Néanmoins, l'équivalent des équations 1.B3.7 pour n_∞ et τ_n serait plus lourd, ce qui n'est sans doute pas étranger au fait que Hodgkin et Huxley ait préféré la forme de l'équation 1.B3.5b à celle de l'équation 1.B3.5a.

Soulignons aussi que les équations 1.B3.7 pourraient être substituées directement dans l'équation 1.B3.5b, ce qui montre bien que n ne dépend que du potentiel V et du temps t.

Observations détaillées sur le sodium. Maintenant que nous avons complété la modélisation de la conductance au potassium, nous entamons celle du sodium, qui suivra des étapes analogues. On détermine cette conductance de la même façon que précédemment : on isole le courant de sodium comme à la figure B9 et on déduit ensuite $g_{Na}(t)$ en calculant $g_{Na} = J_{Na} / (V - E_{Na})$ pour la courbe entière.

Ces courbes révèlent une différence fondamentale entre les comportements manifestés par les conductances au sodium et au potassium suite à un saut de $V = V_0$ à $V = V_{fixé}$. D'une part, l'activation de g_K la fait croître vers un plateau $g_{K\infty}$, dont la valeur ne dépend que de $V_{fixé}$; g_K demeure ensuite à ce plateau jusqu'à ce que V change à nouveau. D'autre part, g_{Na} n'atteint pas un plateau : après une rapide phase de croissance (activation), elle revient spontanément vers zéro. Cette décroissance rapide doit être distinguée de la désactivation de g_K, puisqu'elle survient même si le potentiel demeure $V = V_{fixé}$; on l'appelle donc plutôt l'**inactivation**.

Des observations supplémentaires semblent indiquer que l'activation et l'inactivation *sont des processus indépendants*. Par exemple, on observe qu'une fois pleinement inactivée, la conductance g_{Na} n'est plus «disponible» : en d'autres termes, une fois que V a été maintenu constant suffisamment longtemps à la valeur $V_{fixé}$, tout saut supplémentaire vers une nouvelle valeur $V'_{fixé}$ produit un courant de sodium plus faible que celui qu'on aurait obtenu en sautant directement de V_0 à $V'_{fixé}$. En fait, si $V_{fixé}$ excède environ −25 mV, le saut de $V_{fixé}$ à $V'_{fixé}$ *ne produit pratiquement aucun courant de sodium*.

En revanche, après avoir ainsi maintenu $V = V_{fixé}$ pendant une période prolongée, si on restitue $V = V_0$, il s'effectue, en plus de la désactivation, une **récupération de l'inactivation**. En d'autres termes, la conductance g_{Na} retrouve graduellement sa **disponibilité**. Si on effectue ensuite le saut de V_0 à $V'_{fixé}$, on obtient le même résultat que si on avait débuté avec cette manipulation dès le départ.

On constate à nouveau l'apparente indépendance de l'activation et de l'inactivation simplement en comparant les courbes $g_{Na}(t)$ obtenues pour diverses valeurs de $V_{fixé}$: on y voit que les phases d'activation et d'inactivation ont des constantes de temps différentes.

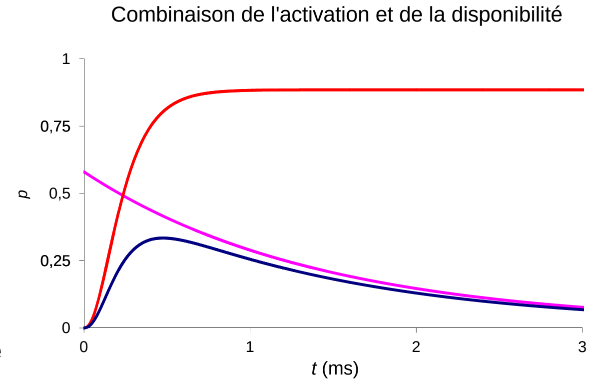


Figure 1.B3.8 Activation et disponibilité pour un saut de 60 mV à partir de V_0 (courbes théoriques) ; leur produit p est proportionnel à la conductance.

Conformément à ces dernières observations, Hodgkin et Huxley ont choisi de modéliser la proportion $p = g_{Na} / g_{Na}^{max}$ comme le produit de deux fonctions qui dépendent de V et du temps mais seraient parfaitement *indépendantes* l'une de l'autre, soit p = (*activation*)(*disponibilité*), comme le montre la **figure 1.B3.8**. Nous verrons à la section 1.C que l'étude moléculaire

du canal à sodium révèle que l'activation correspond à l'ouverture du canal et l'inactivation, à son obstruction subséquente par un segment lâche de la protéine, qui bloque le passage des ions bien que le canal demeure dans sa conformation ouverte. Nous verrons aussi qu'en fait, ces deux processus ne sont *pas complètement indépendants* ; malgré cette inexactitude, le modèle HH décrit bien le cours d'un potentiel d'action et nous en poursuivons l'exposé.

Avant de poursuivre, récapitulons les subtilités du vocabulaire qui est utilisé dans la littérature : contrairement aux canaux à potassium, qui ne pouvaient que s'activer (s'ouvrir, faire croître g_K) ou se désactiver (se fermer, faire décroître g_K), chaque canal à sodium peut se trouver dans quatre états distincts, selon qu'il est *activé* ou *désactivé* et qu'il est *inactivé* ou *non inactivé* (*disponible*). Le passage entre l'état inactivé et l'état non inactivé est appelé la *récupération de l'inactivation*, alors que les trois autres transitions portent le nom de l'état final (par exemple, l'activation est le passage de l'état désactivé à l'état activé). On peut grossièrement affirmer qu'un courant de Na^+ ne peut s'écouler que pendant la phase où g_{Na} est déjà activée mais demeure encore disponible (en pratique, nous verrons que l'activation et l'inactivation sont toujours partielles).

Pour obtenir des courbes expérimentales de la disponibilité et de l'activation à partir de mesures de $J_{Na}(t)$, des protocoles expérimentaux supplémentaires ont été nécessaires, auxquels les auteurs du modèle consacrent deux articles entiers (Hodgkin 1952c,d). La nouveauté de ces protocoles est d'utiliser *deux* sauts du potentiel de membrane : avant le saut vers $V_{fixé}$, l'axone est d'abord «conditionné» à un potentiel de membrane V_{cond} maintenu pendant une période donnée Δt_{cond}. L'interprétation de ces expérience repose invariablement sur l'hypothèse que la réponse à un saut du potentiel de membrane est beaucoup plus rapide dans le cas de l'activation que dans celui de la disponibilité.

Dans une expérience, V_{cond} et $V_{fixé}$ demeuraient les mêmes mais Δt_{cond} variait dans une plage de valeurs pour lesquelles on pouvait considérer que l'activation avait atteint sa valeur cible (le plateau de la courbe rouge à la figure 1.B3.8), mais pas la disponibilité. Ainsi, plus Δt_{cond} est élevé, plus la disponibilité de g_{Na} a eu le temps de s'approcher de sa valeur cible à $V = V_{cond}$. Quand $V_{fixé}$ est ensuite appliqué, on mesure $J_{Na}(t)$ et on suppose que la disponibilité n'a pas vraiment le temps de changer avant que le courant devienne maximal. Le maximum de $J_{Na}(t)$ est donc considéré comme proportionnel à la valeur atteinte par la disponibilité immédiatement avant le saut vers $V_{fixé}$. Cette expérience permet de déduire que l'inactivation est une exponentielle (pas de point d'inflexion) et de déterminer sa constante de temps (**figure 1.B3.9**). Une variante de cette expérience a permis de montrer que la récupération de l'inactivation suit elle aussi une exponentielle.

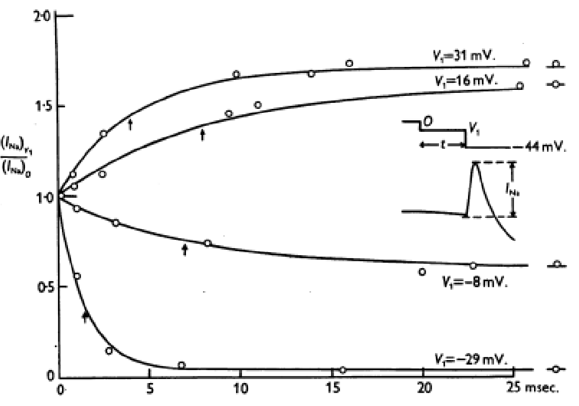


Figure 1.B3.9 Courbes expérimentales de disponibilité ; notez l'absence de point d'inflexion. (Figure : Hodgkin 1952d, Fig. 3 ; rappelons que dans cet article, V est exprimé par rapport à V_0 et avec une convention de signe inverse à la nôtre)

Une fois que la courbe de disponibilité est connue, on peut diviser la conductance par cette dernière afin d'obtenir la courbe d'activation. On constate que cette dernière présente un point d'inflexion comme c'était le cas pour l'activation de g_K. Ce point d'inflexion se répercute d'ailleurs sur la courbe de $J_{Na}(t)$, qui présente donc elle aussi un point d'inflexion (voir par exemple la figure 1.B3.2).

Modéliser le courant de sodium. Puisque l'activation de g_{Na} présente un point d'inflexion alors que son inactivation n'en présente pas, Hodgkin et Huxley ont modélisé la proportion $p = g_{Na} / g_{Na}^{max}$ comme le produit $p = m^y h$, où m^y est l'activation et où h est la disponibilité. Comme ils l'ont fait dans le cas du potassium, ils ont déterminé par essais et erreurs quel exposant y donnait la courbe d'activation dont les proportions représentaient le mieux les données et déterminé qu'il s'agissait de $y = 3$. En conséquence, ils ont postulé que le courant du sodium est donné par :

<u>Courant de sodium</u>

$$J_{Na} = \underbrace{g_{Na}^{max} m^3 h}_{g_{Na}} (V - E_{Na}) \qquad \text{(équation 1.B3.8)}$$

où

$$\frac{dm}{dt} = \frac{m_\infty - m}{\tau_m} \qquad \text{(équation 1.B3.9a)}$$

et

$$\frac{dh}{dt} = \frac{h_\infty - h}{\tau_h} \qquad \text{(équation 1.B3.10a)}$$

où, à une température fixe, m_∞, h_∞, τ_m et τ_h ne dépendent que de V : contrairement à m et à h, ils adaptent immédiatement leur valeur si V change. Comme le modèle HH néglige le courant de pompes, E_{Na} est considéré comme constant et prend une valeur typique (voir la figure 1.B2.3). De plus, à partir de toutes les courbes de tendance des données expérimentales, la conductance maximale a été estimée. Ces deux constantes sont :

$$E_{Na} = 50 \text{ mV}$$
$$g_{Na}^{max} = 120 \text{ mS/cm}^2$$

Interprétation physique. Dans Hodgkin 1952e, on donne à nouveau une interprétation physique de la conductance en termes de «particules d'activation» et de «particules d'inactivation» : la conductance au sodium est vue comme étant proportionnelle au nombre de «sites», dans la membrane, où trois particules d'activation sont liées, sans qu'une particule d'inactivation ne le soit. La variable m représente alors la proportion des particules

d'activation qui sont «liées» alors que la variable *h* représente la proportion des particules d'inactivation qui ne le sont pas.

Avec cette interprétation physique, il est utile comme nous l'avons fait pour la variable *n* de réécrire l'équation 1.B3.9a et l'équation 1.B3.10a sous une forme qui évoque la cinétique d'une réaction de conversion entre les deux états possibles de chaque «particule» :

$$\frac{\mathrm{d}m}{\mathrm{d}t} = \alpha_m(1-m) - \beta_m m$$ (équation 1.B3.9b)

et

$$\frac{\mathrm{d}h}{\mathrm{d}t} = \alpha_h(1-h) - \beta_h h$$ (équation 1.B3.10b)

Comme nous le verrons à la section 1.C, on peut faire correspondre assez bien cette interprétation physique initiale avec celle d'aujourd'hui, qui repose sur l'existence de canaux tensiodépendants à Na^+ : d'une part, m^3 représente la proportion des canaux Na_V qui sont activés, c'est-à-dire dans leur conformation ouverte au passage des ions, et $1 - m^3$, la proportion de ceux qui sont fermés ; d'autre part, $1 - h$ représente la proportion des canaux Na_V qui sont inactivés et *h*, celle des canaux qui sont disponibles (non inactivés). Nous verrons toutefois que cette correspondance du modèle avec le fonctionnement d'un canal n'est pas aussi bonne que dans le cas du potassium : d'abord, l'exposant 3 ne trouve pas de sens physique immédiat ; ensuite, l'inactivation n'est pas le processus parfaitement indépendant de l'activation que Hodgkin et Huxley ont modélisé.

Pour compléter la description du courant de sodium, il ne manque que la dépendance en *V* des paramètres α_m, β_m, α_h et β_h. Les fonctions suivantes (dont la forme est arbitraire) forment une courbe de tendance qui représente bien les données expérimentales (voir, dans Hodgkin 1952e, les Fig. 7 et 9 de même que le texte s'y rapportant) :

$$\alpha_m = 0{,}1\frac{V+40}{1-\mathrm{e}^{-\frac{1}{10}(V+40)}}$$
$$\beta_m = 4\,\mathrm{e}^{-\frac{1}{18}(V+65)}$$ (équation 1.B3.11)

et

$$\alpha_h = 0{,}07\,\mathrm{e}^{-\frac{1}{20}(V+65)}$$
$$\beta_h = \frac{1}{1+\mathrm{e}^{-\frac{1}{10}(V+35)}}$$ (équation 1.B3.12)

où *V* est en millivolts. Encore une fois, soulignons que les équations 1.B3.11 et 1.B3.12

pourraient être substituées directement dans les équations 1.B3.9b et 1.B3.10b, respectivement, ce qui montre bien que *m* et *h* ne dépendent que du potentiel *V* et du temps *t* dans le modèle Hodgkin-Huxley.

Modéliser le courant de fuites. Pour compléter le modèle HH, il ne manque plus que le troisième et dernier courant de l'équation 1.B3.12, c'est-à-dire le courant de fuites, un terme qui regroupe tous les courants autres que ceux décrits par les deux premiers termes.

Il est clairement entendu que ce courant de fuites est très faible ; son existence a d'ailleurs été entièrement négligée dans la procédure expérimentale permettant de séparer J_{total} en ses composantes J_{Na} et J_K (voir figure 1.B3.2). Toutefois, quand V est proche de V_0, J_{Na} et J_K sont tous les deux assez faibles et le courant de fuites prend alors de l'importance relative : non seulement il a un impact sur la valeur du potentiel de repos, mais en plus nous verrons sous peu qu'il contribue fortement à la phase de récupération du potentiel d'action.

Comme l'indique l'équation 1.B3.12, Hodgkin et Huxley ont choisi d'approcher ce courant de fuites par un courant quasi-ohmique (équation 1.B2.4) où la conductance g_{fuites} est constante. Ce modèle reflète toutefois peu de réalité physique : le potentiel d'inversion E_{fuites} ne peut pas être déduit par l'équation 1.B2.1, notamment. En effet, comme le schématise la figure 1.B1.7, le courant de fuites regroupe de nombreux mécanismes (Hodgkin 1952c, p. 494) : la membrane est faiblement perméable aux ions Cl^-, elle comporte des pompes, les ions Na^+ et K^+ peuvent sans doute la traverser faiblement par des moyens autres que ceux décrits par les deux premiers termes de l'équation 1.B3.2, etc. Il faut donc déterminer g_{fuites} et E_{fuites} sans avoir en tête que le courant de fuites est transporté par une espèce ionique en particulier, bien que le chlore en compose la plus grande partie.

Pour évaluer ces paramètres, on a besoin de deux mesures de J_{fuites} à des potentiels de membrane différents. En substituant dans l'équation 1.B2.4, on obtiendra ainsi deux équations où g_{fuites} et E_{fuites} seront les inconnues.

On réalise donc deux expériences. Dans la première, on utilise un milieu extracellulaire sans sodium (de sorte que $J_{Na} = 0$), on fixe $V = E_K$ (de sorte que $J_K = 0$) et on mesure le courant $J_{total} = J_1$ qui est alors uniquement composé de J_{fuites}. Cela donne une première équation $J_1 = g_{fuites}(E_K - E_{fuites})$.

Dans la seconde expérience, on fixe $V = V_2$, où V_2 est une valeur très négative (par exemple, −150 mV). À une telle valeur, *m* et *n* deviennent extrêmement proches de zéro, de sorte que $J_{Na} \approx 0$ et que $J_K \approx 0$. On mesure donc un courant $J_{total} = J_2$ qui est à nouveau uniquement composé de J_{fuites}. Cela donne la seconde équation $J_2 = g_{fuites}(V_2 - E_{fuites})$.

Avec cette méthode, Hodgkin et Huxley ont obtenu en moyenne les valeurs suivantes :

$$g_{fuites} = 0{,}3 \text{ mS/cm}^2$$
$$E_{fuites} = -54{,}4 \text{ mV}$$

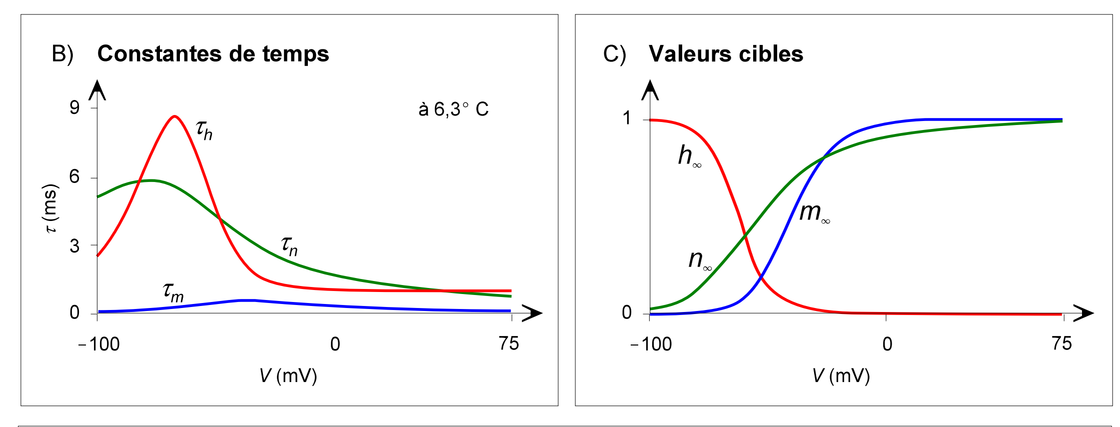
Le modèle isopotentiel complet. Maintenant que nous avons modélisé chaque courant, nous pouvons récapituler le modèle HH. Rappelons d'abord que ce modèle décrit pour le moment un axone isopotentiel. Nous allons revenir au bloc 1.B3.3 sur la propagation le long d'un axone dans une situation physiologique. Ensuite, rappelons aussi que le modèle est quasi-stationnaire, au sens défini dans la sous-section 1.B2, puisque nous avons négligé l'existence des pompes. Cela signifie aussi que les concentrations interne et externe de chaque espèce ionique sont considérées comme stable dans le temps, ce que reflète les valeurs fixes des potentiels d'inversion E_{Na} = +50 mV et E_{K} = −77 mV.

Nous allons maintenant voir en quoi le modèle HH permet de reconstruire le déroulement d'un potentiel d'action. Pour se préparer à cette tâche, débutons en récapitulant les principales équations et en mettant en graphique les paramètres, ce qui est présenté à la **figure 1.B3.10**.

A) **Équations**

$$\frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}t} = -\frac{1}{C}\left[g_{\text{Na}}^{\max} m^3 h (V - E_{\text{Na}}) + g_{\text{K}}^{\max} n^4 (V - E_{\text{K}}) + g_{\text{fuites}} (V - E_{\text{fuites}}) \right]$$

$$\frac{\mathrm{d}n}{\mathrm{d}t} = \frac{n_\infty - n}{\tau_n} \qquad \frac{\mathrm{d}h}{\mathrm{d}t} = \frac{h_\infty - h}{\tau_h} \qquad \frac{\mathrm{d}m}{\mathrm{d}t} = \frac{m_\infty - m}{\tau_m}$$



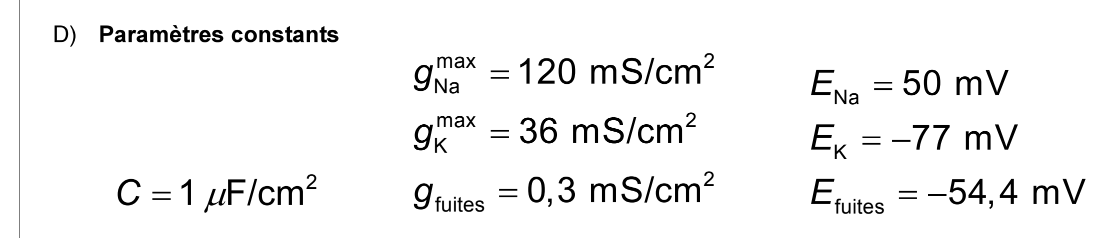


Figure 1.B3.10 Récapitulation du modèle Hodgkin-Huxley pour un potentiel d'action «spaced clamped», tel que présenté dans Hodgkin 1952e (partie II). La première équation est une fusion des équations 1.B3.2, 1.B3.4 et 1.B3.8. Les graphiques B et C représentent les équations 1.B3.7, 1.B3.11 et 1.B3.12 en vert, bleu et rouge, respectivement. Les paramètres constants (D) sont tirés du texte. Une formulation équivalente aurait été obtenue en formulant les taux de variation de *m*, *h* et *n* en fonction des trois paires constantes cinétiques (*α* et *β*), qui auraient alors fait l'objet des deux graphiques au lieu des trois paires (valeur cible, *τ*).

Potentiel de repos selon le modèle. L'intégration numérique des équations de la figure 1.B3.10 conduit spontanément la membrane simulée à un potentiel de repos. On peut calculer ce dernier en utilisant l'équation 1.B3.11, où les conductances g_{Na} et g_K dépendent de V_0. En substituant les valeurs numériques de la figure 1.B3.10, l'équation 1.B3.11 devient :

$$V_0 - \frac{6000 m_\infty^3(V_0) h_\infty(V_0) - 2772 n_\infty^4(V_0) - 16{,}32}{120 m_\infty^3(V_0) h_\infty(V_0) + 36 n_\infty^4(V_0) + 0{,}3} = 0 \qquad \text{(équation 1.B3.13)}$$

En solutionnant numériquement cette équation, on obtient V_0 = −65,0 mV. Si on utilisait plutôt g_{fuites} = 0,25 mS/cm^2 (valeur utilisée dans notre modèle numérique), on obtiendrait alors V_0 = −65,5 mV, ce qui montre que les fuites ont effectivement une petite influence.

Notons qu'au lieu de considérer que V_0 dépend des paramètres illustrées à la figure 1.B3.10, on peut plutôt considérer que c'est E_{fuites} qui est un paramètre ajustable permettant de choisir le potentiel de repos souhaité dans un modèle numérique.

Courant de fenêtre. L'équation 1.B3.13 montre indirectement qu'à $V = V_0$, le courant de potassium et le courant de sodium sont tous deux non nuls. Cela découle simplement du fait que $m^3h(V_0)$ et $n^4(V_0)$ ont une valeur cible non nulle (voir la figure 1.B3.10C).

Dans le cas du potassium, la courbe $n_\infty(V)$ est strictement croissante. En conséquence, tout phénomène qui aurait pour effet d'augmenter V_0 ferait croître le courant de potassium qui circule quand le neurone est au repos, et vice versa.

Dans le cas du sodium, la situation est plus subtile : ni les valeurs très élevées ni les valeurs très faibles de V_0 ne permettent à ce courant de s'écouler significativement, en raison de la combinaison de la désactivation et de l'inactivation. Comme l'illustre la **figure 1.B3.11**, il existe toutefois un intervalle de valeurs de V où la valeur cible de m^3h possède un maximum relatif. Cet intervalle de valeurs de V est une «fenêtre» qui permet au courant de sodium de s'écouler même quand le neurone est au repos. Un tel courant est dit **courant de fenêtre** («window current»).

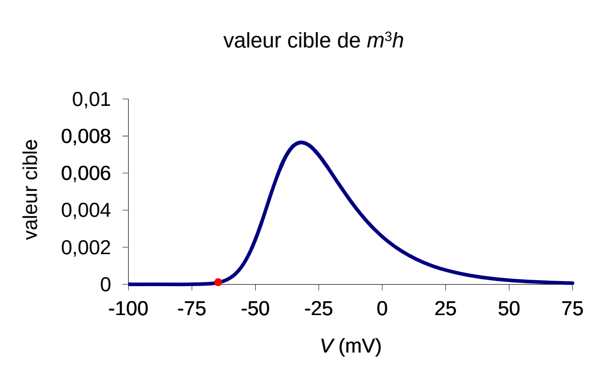


Figure 1.B3.11 Le sodium peut s'écouler même au repos grâce à un *courant de fenêtre*.

Heureusement, dans un neurone normal, V_0 est en périphérie de la «fenêtre», comme l'indique le point rouge sur la figure 1.B3.11. Ce n'est plus forcément le cas si le neurone est endommagé : si les canaux Na_V subissent un décalage cinétique, comme le voudra l'hypothèse sur laquelle se fondera le modèle numérique de nos travaux de recherche, introduits au chapitre 3, le point rouge de la figure 1.B3.11 peut alors être décalé vers la droite, donc vers la fenêtre, même si V_0 ne change pas significativement. L'influx de sodium est alors plus élevé, même au repos, ce qui entraîne une pléthore de phénomènes.

Prédictions du modèle grâce à l'intégration numérique. Nous allons maintenant voir comment le modèle HH prédit le déroulement d'un potentiel d'action. La figure 1.B3.10 montre que le modèle HH comprend quatre variables, V, m, h et n, et une équation différentielle de premier ordre qui permet de décrire l'évolution de chacune d'elle dans le temps, à partir d'une valeur initiale donnée. Pour prédire le déroulement d'un potentiel d'action, on peut intégrer numériquement ces équations (l'appendice C porte notamment sur les méthodes informatiques utilisées pour ce faire). Notez qu'on cesse pour la première fois, ici, de parler d'une situation avec voltage clamp pour laisser plutôt V évoluer librement dans le temps.

L'intégration numérique débute toujours avec des conditions initiales qui correspondent au repos ($V = V_0 = -65{,}0$ mV ; $m = m_\infty(V_0) = 0{,}05293$; $h = h_\infty(V_0) = 0{,}5961$ et $n = n_\infty(V_0) = 0{,}3177$). Évidemment, si on ne perturbe pas la membrane, la valeur de ces quatre variables demeure constante. Pour stimuler la membrane, on peut modifier V de façon discontinue en lui appliquant un gain V_{stim}, ce qui modélise assez bien à l'augmentation brutale de V qui survient expérimentalement quand on injecte de la charge dans l'axone.

La **figure 1.B3.12** illustre le résultat d'intégrations numériques pour $V_{stim} = \{6,7,50\}$ mV, la stimulation étant appliquée à $t = 10$ ms. On y constate deux comportements. D'une part, quand $V_{stim} < 7$ mV, l'intégration prédit un retour immédiat vers V_0 (avec une oscillation très amortie). C'est un *potentiel gradué* : pas assez de canaux Na_V se sont ouverts pour initier un potentiel d'action. D'autre part, quand $V_{stim} \geq 7$ mV, l'intégration numérique prédit un *potentiel d'action*. Ces résultats montrent que le modèle HH reproduit une caractéristique fondamentale des membranes excitables : l'existence d'un *seuil de stimulation* (voir sous-section 1.B1). Il prédit aussi une seconde caractéristique fondamentale : *l'aspect stéréotypé d'un potentiel d'action*. En effet, bien que le saut de tension utilisé comme stimulation varie par un facteur 7, l'amplitude, la forme et la durée des deux potentiels d'action de la figure 1.B3.12 sont quasi-identiques.

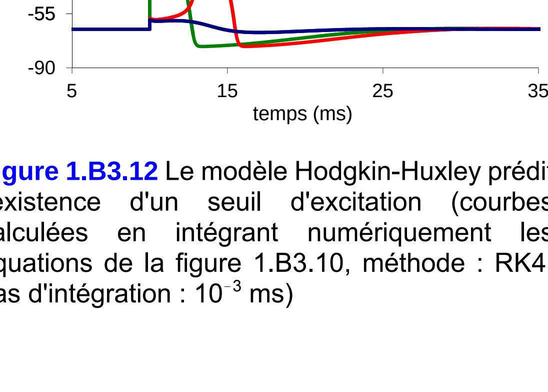


Figure 1.B3.12 Le modèle Hodgkin-Huxley prédit l'existence d'un seuil d'excitation (courbes calculées en intégrant numériquement les équations de la figure 1.B3.10, méthode : RK4, pas d'intégration : 10^{-3} ms)

On peut observer une troisième prédiction importante du modèle HH si on stimule à deux reprises le neurone et qu'on observe sa réaction en fonction de l'intervalle de temps qui sépare les deux stimulations. Sur la **figure 1.B3.13**, le neurone a été stimulé à $t = 10$ ms et a reçu par la suite une stimulation identique une seconde fois. Comme le montrent respectivement la trace bleue et la trace rouge sur la figure, stimuler le neurone à $t = 22$ ms ou 27 ms n'a *pas* pour effet de provoquer un second potentiel d'action ; il faut

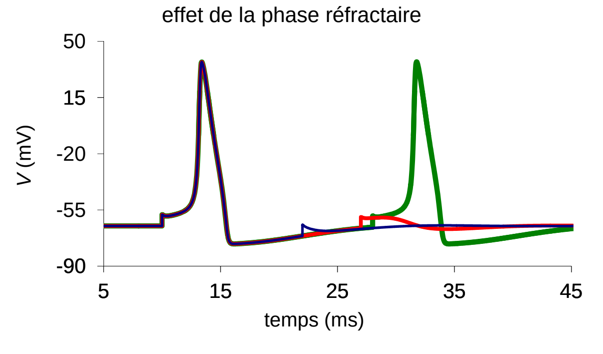


Figure 1.B3.13 Le modèle HH prédit l'existence d'une phase réfractaire (méthodes : voir figure 1.B3.12).

attendre t = 28 ms (trace verte) pour ce soit à nouveau possible (avec ce stimulus). En somme, le modèle HH prédit l'existence d'une *phase réfractaire* (voir sous-section 1.B1).

Déroulement d'un potentiel d'action. Nous allons maintenant nous pencher sur les détails du mécanisme d'un potentiel d'action sous l'effet d'un space clamp, dont chaque phase sera interprétée à la lumière du modèle HH. Pour ce faire, la **figure 1.B3.14** se penche sur l'un des potentiels d'action de la figure 1.B3.12 (celui pour V_{stim} = 50 mV) et identifie, à cinq instants de son déroulement, les points pertinents sur les courbes des valeurs cibles et des constantes de temps (figure 1.B3.10b,c). Nous décrivons maintenant ces cinq étapes.

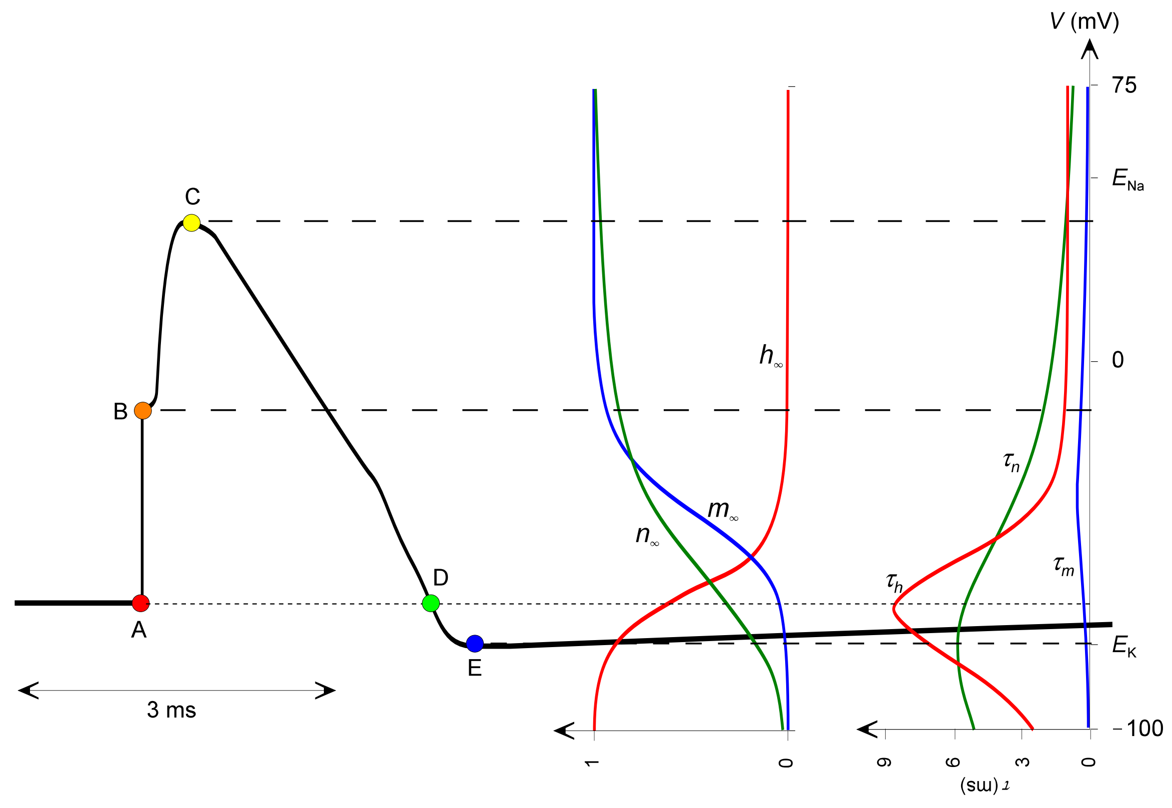


Figure 1.B3.14 Les phases d'un potentiel d'action sont déterminées par les valeurs cibles et les constantes de temps des variables *m*, *h* et *n*. Voir la description dans le texte.

Point A : La situation débute au repos, où $V = V_0 = -65$ mV. On a alors $m^3h = 8{,}8\times10^{-5}$ et n^4 = 0,010 : peu de courant circule (en particulier, le courant de fenêtre du sodium est négligeable). L'un des principaux points-clé est qu'à ce potentiel de membrane, le délai de réaction de la variable *m* est τ_m = 0,24 ms, *un ordre de grandeur de moins* que τ_n = 5,5 ms et que τ_h = 8,4 ms. À mesure que V augmente, cet écart se rétrécit mais la variable d'activation *m* demeure toujours nettement plus rapide.

Point B : Quand le potentiel de membrane augmente jusqu'à ce niveau, *m* passe rapidement de sa valeur de repos à sa nouvelle valeur cible >0,9, alors que *n* et *h* ont peu le temps de changer. Ainsi, $m^3h > 0{,}3$ mais n^4 demeure de l'ordre de 0,01 : le courant de sodium domine largement. La conductance g_{Na} dominant largement les autres, V tend vers E_{Na} (voir l'équation 1.B2.11). En d'autres termes, le courant de Na^+ étant un courant entrant (négatif), il fait croître V spontanément. (Soulignons que cela fait croître *m* encore

davantage : cette rétroaction positive signifie que le seuil de non retour est franchi ; à cette étape, retirer tout stimulus n'empêcherait pas le potentiel d'action de se produire.)

Au point C, les valeurs cibles et les constantes de temps ne sont pas très différentes de ce qu'elles étaient au point B. Par contre, entre ces deux points, du temps s'est écoulé, ce qui a permis à h et à n de s'approcher de leurs valeurs cibles. Le courant de potassium commençant à circuler et la conductance du sodium commençant à être inactivée, g_{Na} ne domine plus, donc, la croissance de V s'interrompt avant que E_{Na} n'ait pu être rejoint. À partir du point C, g_{Na} est décroissant alors que g_K est croissant.

Entre C et D, le courant de sodium continue sans cesse de décroître en raison de l'inactivation. Tant que cette inactivation demeure, la membrane est incapable de répondre à un nouveau stimulus : c'est le début de la *phase réfractaire*. À l'inverse de g_{Na}, pendant la majorité du trajet entre C et D, g_K continue de croître. Ainsi, g_K domine et le potentiel de membrane tend donc de plus en plus vers E_K (voir l'équation 1.B2.11). En d'autres termes, le courant de K^+ étant un courant sortant (positif), il fait décroître V. Le courant de fuite participe faiblement à cette décroissance de V.

Au point D, le potentiel de membrane a retrouvé sa valeur de repos. Par contre, ce n'est *pas* le cas des variables m, h et n. Au contraire, la phase de descente de V ayant duré environ 2 ms, seule m a eu le temps de réagir, h et n conservant environ les valeurs qu'elles avaient au point C. Pour cette raison, J_K conserve une valeur plus élevée que celle de repos et V continue de décroître. Le potentiel de repos est *dépassé par le bas*.

Au point E, le potentiel de membrane devient presque égal à E_K et le courant de potassium devient donc très faible. Le potentiel de membrane peut donc amorcer sa phase de récupération, c'est-à-dire sa lente remontée vers V_0 (la lente récupération de l'inactivation a débuté environ au point D). Notez sur l'échelle verticale qu'en tout temps, $E_K < V < E_{Na}$, conformément à l'équation 1.B2.11.

Le retour de V vers V_0 est entraîné par le lent retour de g_K à sa valeur de repos, ce qui modifie la valeur cible donnée par l'équation 1.B2.11. Toutefois, il reste à élucider quel courant circule pour faire tendre V vers cette valeur cible : ce ne peut être J_K puisque sa polarité est l'inverse de celle requise ; ce ne peut être J_{Na} puisque sa valeur est négligeable (car $m \approx 0{,}01$ donc $m^3h \approx 10^{-7}$). C'est donc le courant de fuites qui est le principal responsable de l'ajustement de V pendant la phase de récupération. Pour le montrer, nous avons calculé les conductances et les courants à chacun des points du graphique $V(t)$ de la figure 1.B3.12, le résultat apparaissant à la **figure 1.B3.15**.

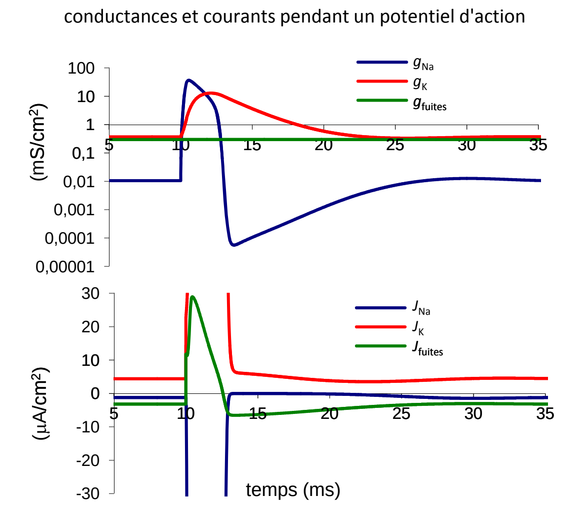


Figure 1.B3.15 L'étude des conductances et des courants pendant un potentiel d'action permet de découper le mécanisme de ce dernier en trois phases. Notez l'échelle logarithmique.

Sur cette figure, on constate d'abord qu'au

repos, avant la stimulation qui survient à t = 10 ms, les conductances g_K et g_{fuites} sont comparables, alors que g_{Na} leur est nettement inférieure. Pendant la phase de récupération, le courant de sodium est encore plus faible, et le courant de fuites parvient à peine à contrecarrer le courant de potassium. On pourrait être tenté d'en conclure que cette compétition explique que la remontée de V est très longue, mais c'est plutôt le délai de réaction de g_K qui l'explique.

Au chapitre 3, nous verrons que le décalage cinétique des canaux sodiques fait en sorte que la phase réfractaire est raccourcie et que la remontée de V vers V_0 est plus rapide.

Quelques idées fausses à éviter. Enfin, l'enseignant que nous sommes ne saurait terminer ce bloc sans souligner les erreurs conceptuelles fréquentes rencontrées au sujet du mécanisme d'un potentiel d'action. Certaines de ces erreurs ne sont faites que par les étudiants qui débutent mais d'autres sont répandues même parmi des enseignants. Elles sont de trois ordres :

- La plupart des manuels introductifs en biologie, notamment Campbell 2007 et Marieb 2010, expliquent malheureusement le fonctionnement du potentiel d'action en ayant recours seulement aux ions Na^+ et K^+, ce qui les force à rester muets sur le mécanisme de récupération. Il y a pire : beaucoup de matériel didactique, notamment des animations web et des cours web (même une qui est une production de l'université Harvard !), attribuent la récupération à des *faux mécanismes* comme les pompes Na/K, dont le courant est pourtant hyperpolarisant (Bohan 2005, Proulx 2011, Graven 2013, Okur 2013, etc.), le courant de potassium, qui a lui aussi la polarité inverse de celle qui lui permettrait de jouer ce rôle, ou le courant de sodium, pourtant quasi-nul (GeneEd Inc 2008 ; Campbell 2007, figure 48.11), voire la dispersion des ions qui viennent de traverser, qui s'effectue pourtant excessivement plus vite que la récupération.

- Les manuels introductifs en biologie réfèrent souvent à l'influx de sodium qui initie le potentiel d'action comme étant «massif» ou «rapide», ce qui laisse entendre que l'entièreté des ions sodium (ou une proportion significative) pénètre dans l'axone pendant le passage d'un potentiel d'action (par exemple : Campbell 2007, section 48.3). Le même problème s'applique en sens inverse pour le potassium. Or, il n'en est rien : comme nous l'avons calculé à la sous-section 1.B2, seul un transfert de 10^{-12} mol/cm^2 de sodium est suffisant pour effectuer toute la phase de montée de V. Cette quantité représente une fraction infime ($\approx 10^{-6}$) des ions disponibles. Il en va de même pour le potassium. Cette erreur conceptuelle est sous doute encouragée davantage par les illustrations de manuels, même avancés, de même que la plupart des animations web, qui représentent toujours un petit nombre d'ions de chaque espèce et sur-représentent donc grandement la proportion de ceux qui traversent la membrane.

- Enfin, sous l'effet encore une fois des illustrations, de nombreux étudiants ne réalisent pas que la charge nette accumulée de part et d'autre de la membrane est située dans une très fine couche. Pourtant, sans même avoir à solutionner l'équation de Poisson-Boltzmann, il devrait sembler claire que des charges nettes de signes opposés devraient s'attirer et donc se coller sur la membrane. Les éloigner l'une de l'autre requiert de faire un travail que seules les collisions thermiques peuvent faire.

L'épaisseur des fines couches de charge de part et d'autre de la membrane ne saurait donc dépasser celle permise par les fluctuations thermiques.

L'article pédagogique que nous présentons au chapitre 2 a pour objectif d'outiller les enseignants afin de leur permettre de contrecarrer les erreurs conceptuelles que nous venons de présenter. En plus d'utiliser des arguments théoriques pour falsifier ces conceptions erronées, il utilise aussi des simulations numériques qui permettent de remplacer ces conceptions erronées par une représentation adéquate.

1.B3.3 Le modèle HH explique aussi la conduction le long de l'axone

Le modèle HH que nous venons de présenter a été développé avec un axone isopotentiel et décrit le déroulement $V(t)$ d'un potentiel d'action qui y survient. Par contre, on peut supposer qu'il s'applique aussi à une longueur infinitésimale de l'axone. Cette idée est celle qui permettra d'étendre le modèle HH à la description de potentiels d'action qui se propagent le long de l'axone, c'est-à-dire à l'obtention de $V(x,t)$.

On commence par discrétiser l'axone en le subdivisant en compartiments. Pour le moment, nous continuons de décrire un axone de calmar, tel que ceux utilisés expérimentalement par Hodgkin et Huxley ; de tels axones étant uniformes (non myélinisés), tous les compartiments seront identiques. Évidemment, dans un axone réel, les compartiments communiquent entre eux, ce qui signifie qu'ils peuvent s'échanger des ions par diffusion simple et par conduction. Contrairement à la membrane, le cytosol a une conductance constante alors on peut modéliser le lien entre les compartiments par une résistance électrique simple κ comme l'illustre la **figure 1.B3.16** (comme dans le cas des courants traversant la membrane, les effets de rectification sont ignorés, voir l'appendice B). Les volumes extracellulaires sont eux aussi reliés entre eux dans un axone réel, mais nous continuerons de supposer que l'ensemble du volume extracellulaire est mis à la terre (les résistances entre les volumes extracellulaires des compartiments étant donc considérées comme nulles, nous les omettons sur la figure).

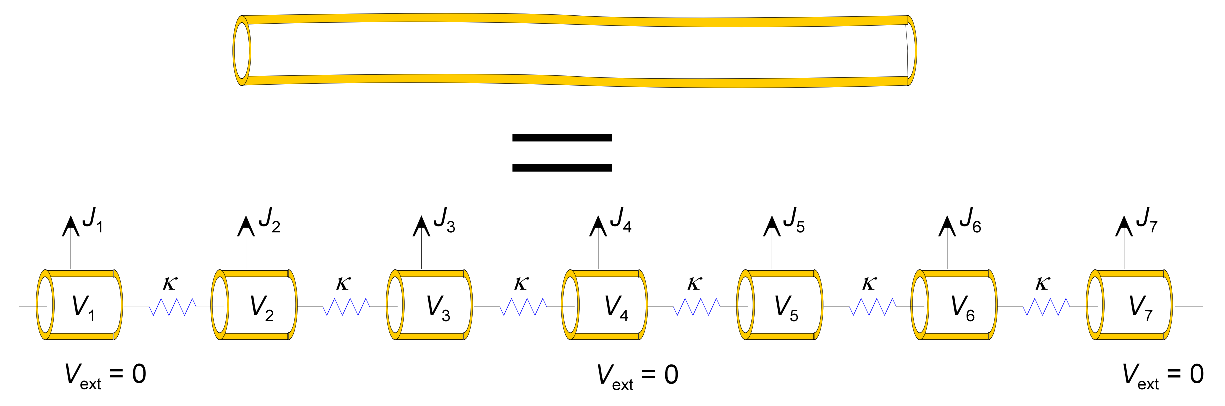


Figure 1.B3.16 Pour étudier la propagation, un axone peut être subdivisé en un grand nombre de compartiments reliés par une résistance, le courant J_i traversant la membrane du compartiment i en raison de son potentiel de membrane V_i étant décrit par le modèle HH.

Quand deux compartiments adjacents ont un potentiel de membrane différent, ils ont donc un potentiel intracellulaire différent, comme l'indique la figure. Par conséquent, un courant

ohmique s'écoulera entre les deux compartiments. L'évolution du potentiel de membrane V_i est donc donnée par une version modifiée de l'équation 1.B3.2 :

$$\frac{dV_i}{dt} = -\frac{1}{C}\left[\begin{matrix} g_{Na}^{max} m^3 h(V_i - E_{Na}) + g_K^{max} n^4 (V_i - E_K) + \\ g_{fuites}(V_i - E_{fuites}) + \kappa(2V_i - V_{i+1} - V_{i-1}) \end{matrix}\right] \quad \text{(équation 1.B3.14)}$$

Notons que le courant qui circule dans l'axoplasme ne doit pas être confondu avec le courant qui traverse la membrane. En cas de risque de confusion, nous utiliserons l'indice ℓ pour désigner les grandeurs axoplasmiques et l'indice m pour les grandeurs membranaires (axolemmales).

D'après la figure 1.B3.16, on pourrait penser que la conductance axoplasmique κ est mesurée en siemens et qu'elle équivaut à $A/\rho\Delta x$, où A est la section de l'axone et Δx, la longueur du compartiment. L'équation 1.B3.14 contredit cette idée. En effet, les premiers termes de cette équation, tirés de l'équation 1.B3.2, sont des courants *par unité de surface de membrane*. Comme le nouveau terme est lui aussi divisé par C, la capacité par unité de surface de membrane, κ a donc fait l'objet d'une conversion appropriée pour s'exprimer elle aussi en mS/cm^2 de membrane : elle équivaut donc à $\kappa = A_{section}/\rho\Delta x\, A_{latérale} = r/2\rho\Delta x^2$, où r et Δx sont respectivement le rayon et la longueur du compartiment.

Limite analytique. Dans une étude numérique comme la nôtre, l'équation 1.B3.14 a déjà la forme appropriée pour être intégrée numériquement par un ordinateur (l'appendice C débute avec les méthodes utilisées à cette fin). Il ne reste qu'à choisir la longueur des compartiments et à ajuster κ en conséquence. Par contre, si on souhaite faire une étude analytique, on doit trouver une façon de faire tendre Δx vers zéro. On reconnaît que le dernier terme de l'équation 1.B3.14 a la forme d'un schème discret correspondant à une dérivée seconde, seule la division par Δx^2 étant manquante[19]. Or, $\kappa = r/2\rho\Delta x^2$. En faisant tendre Δx vers zéro, l'équation 1.B3.14 devient donc (voir Hodgkin 1952e, équation 29) :

$$\frac{\partial V}{\partial t} - \frac{r}{2\rho C}\frac{\partial^2 V}{\partial x^2} = -\frac{1}{C}\left[\begin{matrix} g_{Na}^{max} m^3 h(V - E_{Na}) + \\ g_K^{max} n^4 (V - E_K) + \\ g_{fuites}(V - E_{fuites}) \end{matrix}\right] = -\frac{1}{C} g_{eq}(V - V_0) \equiv -\frac{J_m}{C} \quad \text{(équation 1.B3.15)}$$

où r est le rayon de l'axone et où $J_m = g_{eq}(V - V_0)$ est le courant ionique total qui traverse la membrane (où g_{eq} est la somme des trois conductances et où V_0 est donné par l'équation 1.B2.11).

[19] En effet, estimer numériquement dV/dx peut se faire en calculant $(V_{i+1} - V_i)/\Delta x$, en vertu de la définition fondamentale de la dérivée. Si on fait un tel calcul en deux points et qu'on divise par Δx la différence des deux résultats, on obtient cette fois un estimé de la dérivée seconde, $(V_{i+1} - 2V_i + V_{i-1})/\Delta x^2$.

Pour simplifier l'équation 1.B3.15 davantage, on peut aussi poser $v = V - V_0$ et elle devient :

$$\frac{\partial v}{\partial t} - \frac{r}{2\rho C}\frac{\partial^2 v}{\partial x^2} = -\frac{1}{C} g_{\text{eq}} v = -\frac{J_\text{m}}{C} \qquad \text{(équation 1.B3.16)}$$

L'analyse dimensionnelle de cette équation révèle que le facteur $r/2\rho C$ doit avoir des unités de [longueur^2/temps]. Or, on remarque qu'il correspond à l'inverse du produit de la capacité axolemmale par unité de longueur de l'axone c_m et de la résistance axoplasmique par unité de longueur de l'axone r_ℓ. (Soulignons que ce produit est la constante de temps nécessaire pour charger une unité de longueur d'axone à l'aide du courant axoplasmique). On peut donc réécrire l'équation 1.B3.16 comme

Équation du câble

$$\frac{\partial v}{\partial t} = \frac{1}{r_\ell c_\text{m}}\frac{\partial^2 v}{\partial x^2} - \frac{g_\text{eq}}{C} v \qquad \text{(équation 1.B3.17)}$$

On signale que cette équation n'a pas la forme d'une équation d'onde mais plutôt celle d'une équation de diffusion, où le facteur $1/r_\ell c_\text{m}$ joue le rôle du coefficient de diffusion (habituellement noté D), et où est ajouté un terme source non linéaire, $-J_\text{m}/C = -g_\text{eq}v/\text{C}$. Ce terme source correspond au courant qui sort ($J_\text{m} > 0$) ou qui entre ($J_\text{m} < 0$) dans l'axone.

On s'attend à ce que cette équation différentielle soit celle anticipée à la sous-section 1.B1, pour laquelle une famille de solutions correspondent au potentiel d'action. Pour le vérifier, on suit un raisonnement présenté dans Scott 2002 (chap. 4) et on cherche des solutions qui ont la forme d'une onde progressive $v(x,t) = f(x - ct)$: il suffit de substituer $\xi = x - ct$ et l'équation 1.B3.17 devient :

$$-v\frac{\text{d}v}{\text{d}\xi} = \frac{1}{r_\ell c_\text{m}}\frac{\text{d}^2 v}{\text{d}\xi^2} - \frac{g_\text{eq}}{C} v \qquad \text{(équation 1.B3.18)}$$

qu'on peut réécrire comme deux équations différentielles de premier ordre :

$$\frac{\text{d}w}{\text{d}\xi} = r_\ell c_\text{m}\left[\frac{g_\text{eq}}{C} - w\right] v$$
$$\frac{\text{d}v}{\text{d}\xi} = w \qquad \text{(équation 1.B3.19)}$$

Ces deux équations, combinées aux équations 1.B3.5, 1.B3.9 et 1.B3.10 qui décrivent l'évolution de m, h et n et déterminent donc g_eq, représentent un système de cinq équations différentielles du premier ordre, où la variable indépendante est ξ.

D'un point de vue dynamique (voir appendice A), ce système d'équations présente un seul point fixe qui correspond au neurone au repos. Puisqu'un potentiel d'action débute au repos et revient au repos, on s'attend à ce qu'il existe des trajectoires homocliniques ayant ce comportement : elles quitteraient le point fixe à $\xi = -\infty$ et y reviendraient à $\xi = +\infty$.

Il existe effectivement deux trajectoires homocliniques qui solutionnent ce système de cinq équations : l'une est stable, correspond à une fluctuation de v ayant une grande amplitude, alors que l'autre est instable et a une plus faible amplitude (Scott 2002, chap. 4). La trajectoire instable agit comme une frontière entre les trajectoires qui retournent directement au point fixe (*potentiel gradués*) et celles qui tendent vers l'autre trajectoire homoclinique (*potentiels d'action*). Cette trajectoire instable détermine donc le *seuil d'excitation*.

Malheureusement, il est impossible de visualiser ces trajectoires dans l'espace de phase puisque ce dernier a cinq dimensions. Au bloc suivant, nous évoquerons rapidement quelques simplifications du modèle HH qui permettent de réduire le nombre de dimensions sans perdre les caractéristiques essentielles du modèle.

Limite linéaire. L'équation du câble est non linéaire pour la seule raison que g_{eq} est une fonction de v et de t. Par contre, il existe deux circonstances où g_{eq} est essentiellement une constante. La première est le cas d'une membrane non excitable ; la seconde est le cas d'une membrane excitable peu perturbée, c'est-à-dire où $V \approx V_0$ donc $v \approx 0$ (en effet, quand la membrane excitable est peu perturbée, les canaux tensiodépendants demeurent tous essentiellement dans leur état de repos). Dans ces deux cas, g_{eq} demeure donc approximativement une constante qu'on écrira g_0. L'équation 1.B3.17 devient donc linéaire :

Équation du câble linéaire

$$\frac{\partial v}{\partial t} = \frac{1}{r_\ell c_\mathbf{m}} \frac{\partial^2 v}{\partial x^2} - \frac{g_0}{C} v \qquad \text{(équation 1.B3.20)}$$

Contrairement à l'équation 1.B3.17, cette équation ne présente aucune solution ayant la forme d'une onde progressive. Ses solutions ont plutôt une amplitude qui décroît et une forme qui s'estompe avec le temps. Ce sont les *potentiels gradués*. Notons que ces derniers apparaissaient déjà comme solution à l'équation 1.B3.17. (On peut les obtenir analytiquement en posant $u = v \exp(-g_0 t/C)$; l'équation 1.B3.20 devient alors une équation de diffusion facilement soluble ; voir Nelson 2008, section 12.1).

1.B3.4 Réductions du modèle Hodgkin-Huxley

Le modèle HH récapitulé à la figure 1.B3.10 est un système de quatre équations différentielles du premier ordre. Quand on tient compte de la propagation le long de l'axone, on a même un système de cinq équations du premier ordre, comme nous l'avons montré au bloc précédent. Le niveau de détail de ce modèle le rend donc difficile à aborder d'un point de vue mathématique ; en particulier, la visualisation dans un espace de phase est impossible.

Pour contrecarrer ces problèmes et permettre une analyse mathématique poussée,

plusieurs modèles simplifiés ont été imaginés. Ces modèles possèdent au maximum deux dimensions, trois si on tient compte de la propagation le long de l'axone. La présente thèse ne visant pas une étude analytique, nous allons nous contenter d'évoquer brièvement l'existence de deux de ces modèles, ceux du bord d'attaque («leading edge models») et celui de FitzHugh et Nagumo. Une présentation plus complète peut être trouvée dans Scott 2002 (chap 5-6).

Un des points-clé de la réduction dimensionnelle est d'observer que les quatre variables du modèle HH ont des constantes de temps très différentes : V et m sont des variables «rapides», qui changent complètement de moins d'une milliseconde, alors que h et n sont des variables 10 fois plus «lentes». Le modèle FitzHugh-Nagumo et les modèles du bord d'attaque sont tous deux construits sur cette observation.

Modèle du bord d'attaque. Une première méthode permettant de réduire le modèle HH est d'estimer que m a un temps de réponse nul (plus rapide que V) alors que n et h ont un temps de réponse infini, c'est-à-dire qu'il ne répondent pas du tout. Ainsi, on exprime n et h comme des constantes (prenant leur valeur au repos) et m comme une fonction de V seulement (c'est-à-dire $m_\infty(V)$, sa valeur cible qui est atteinte instantanément quand le temps de réponse est nul).

Un tel modèle ne permet évidemment pas de décrire le potentiel d'action complet avec son retour à $V = V_0$, puisque le courant de potassium est considéré comme constant. Toutefois, on s'attend à ce qu'il permette de décrire adéquatement le *bord d'attaque*, c'est-à-dire le début du potentiel d'action, la phase où V croît. Si l'inconvénient de ce modèle est qu'il ne représente que le bord d'attaque, son avantage est indéniablement sa faible dimensionnalité : notez en effet que nous avons éliminé *trois* variables (et leurs équations différentielles associées).

Avec les hypothèses que nous venons de formuler, l'équation du câble devient celle des **modèles du bord d'attaque** :

$$\frac{1}{r_\ell c_\mathrm{m}}\frac{\partial^2 V}{\partial x^2}-\frac{\partial V}{\partial t}=A\left[m_\infty(V)\right]^3(V-E_\mathrm{Na})+B(V-E_\mathrm{K,fuites}) \qquad \text{(équation 1.B3.21)}$$

où A, B et $E_{\mathrm{K,fuites}}$ peuvent être obtenus simplement à partir des paramètres habituels et où $m_\infty(V)$ est la fonction illustrée aux figures 1.B3.10 et 1.B3.14.

L'équation 1.B3.21 peut être simplifiée davantage si on remplace $A[m_\infty(V)]^3$ par une fonction plus simple, par exemple $\alpha + \beta(V - V_0)^2$ (Nelson 2008, chap. 12). Le membre de droite de l'équation 1.B3.21 devient donc une simple fonction cubique $f(V)$. Une autre option consiste à remplacer le membre de droite de l'équation 1.B3.21 par une fonction linéaire par morceaux.

Dans les deux cas, cette équation du câble simplifiée permet la visualisation dans un plan de phase, l'analyse avec tous les outils de la dynamique non linéaire (voir appendice A) et même l'obtention de quelques résultats analytiques. Parmi ces résultats analytiques, soulignons celui voulant que *la vitesse de propagation dans un axone uniforme (non*

myélinisé) soit proportionnelle à la racine carrée du rayon de l'axone. C'est ce qui explique que les invertébrés capables de réactions rapides aient des axones aussi énormes (comme l'axone géant du calmar sur lequel Hodgkin et Huxley ont réalisé leurs mesures historiques).

Modèle FitzHugh-Nagumo. Si les modèles du bord d'attaque sont intéressants en raison de leur simplicité mathématique, il n'en demeure pas moins qu'il ne permettent pas de décrire un potentiel d'action complet. Pour conserver toutes les caractéristiques qualitatives du modèle HH, il faut au moins intégrer au modèle réduit un mécanisme lent permettant le retour à zéro du courant de sodium et l'augmentation du courant de potassium.

Dans le **modèle FitzHugh-Nagumo** (FitzHugh 1961, Nagumo 1962), on considère que n_∞ et $1 - h_\infty$ sont des fonctions comparables (voir la figure 1.B3.10c). De même, n et h ont des temps de réponse comparables (voir la figure 1.B3.10b). On peut donc les remplacer par une seule variable w. On obtient ainsi un système à deux variables et à deux équations différentielles de premier ordre (trois si on tient compte de la propagation le long de l'axone). Habituellement ces deux équations sont présentées sous la forme adimensionnée suivante :

$$\frac{\mathrm{d}v}{\mathrm{d}t} = v - \tfrac{1}{3}v^3 - w$$
$$\frac{\mathrm{d}w}{\mathrm{d}t} = \varepsilon(v + a - bw)$$

(équation 1.B3.22)

où le temps est mesuré en unités de C/g_0. On remarque que, dans le cas particulier où a et b sont nuls, les équations du modèle FitzHugh-Nagumo se réduisent à celles de l'oscillateur de Van der Pol, où le système possède un unique cycle limite stable, où la trajectoire «saute» entre les deux branches d'un nullcline (voir l'appendice A) de forme cubique, qu'elle longe lentement entre chaque saut, produisant ainsi une fonction $v(t)$ à deux échelles de temps, qualitativement très similaire à une série périodique de potentiels d'action (Strogatz 1994, chap. 7).

Le modèle de FitzHugh-Nagumo reproduit de nombreuses propriétés typiques d'une membrane excitable. Par exemple, si v est faiblement perturbé, la trajectoire reste dans le bassin d'attraction d'un point fixe et on obtient donc un *potentiel gradué*. En revanche, il existe un *seuil d'excitation* qui, s'il est excédé, fait bondir la trajectoire jusqu'à la branche éloignée du nullcline $\dot{v} = 0$. On obtient alors une trajectoire dans le plan de phase dont la forme a peu à voir avec le stimulus initial.

En terminant, soulignons qu'il existe d'autres modèles permettant de représenter qualitativement le fonctionnement d'un potentiel d'action avec seulement deux variables. C'est le cas, notamment, du modèle Morris-Lecar (Morris 1981) qui est mathématiquement un hybride entre le modèle HH (on y trouve trois termes correspondant à deux courants ioniques et à un courant de fuite) et le modèle FitzHugh-Nagumo (on y trouve un nullcline cubique, notamment).

1.B3.5 Extension aux axones myélinisés des vertébrés

Jusqu'à présent, il a été question du modèle Hodgkin-Huxley qui a été développé à partir de mesures réalisées sur des nerfs de calmar. Contrairement à ceux du calmar, nous avons dit à la section 1.A que presque tous les axones de vertébrés sont majoritairement recouverts d'intervalles de myéline, des structures semblables se retrouvant aussi chez quelques invertébrés (Hartline 2008). De plus, contrairement aux axones géants de calmars, la distribution des canaux Na_V et K_V dans un axone myélinisé n'est pas uniforme, puisqu'ils sont presque absents hors des noeuds de Ranvier ; en fait, elle n'est même pas uniforme *dans un noeud de Ranvier*, les canaux Na_V étant concentrés au centre du noeud et les K_V, loin de part et d'autre (Rasband 2000 ; voir aussi Hille 2001, chap. 3). Enfin, rien n'assure que ces canaux soient présents dans les mêmes proportions que chez le calmar ou qu'il n'existe pas des canaux additionnels déterminants. Pour ces trois raisons, il est tout à fait légitime de se demander si le modèle HH peut bel et bien être adapté à la description de ces axones non uniformes et de quelle façon.

Tout d'abord, quelles que soient les propriétés de la membrane d'un axone myélinisé et sa composition en canaux ioniques, on peut quand même appliquer l'approche de la figure 1.B3.16, où l'axone a été subdivisé en courts segments. La différence, cette fois-ci, est que les segments ne peuvent pas être tous identiques, puisqu'ils se distinguent par leur membrane et selon qu'il font partie du noeud de Ranvier, sans myéline, ou de l'internoeud, recouvert de myéline. Le modèle géométrique obtenu est présenté à la **figure 1.B3.17**.

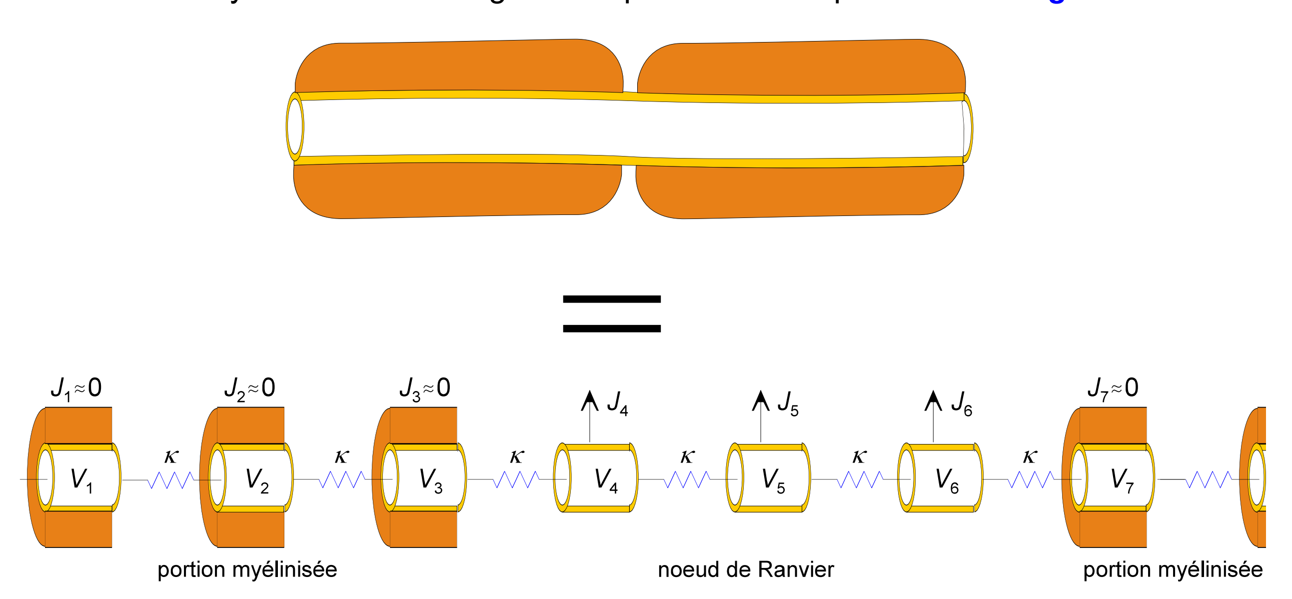


Figure 1.B3.17 Suivant la même approche que dans un axone non myélinisé, chaque portion myélinisée et chaque noeud de Ranvier peuvent séparément être subdivisés en un nombre arbitraire de compartiments. En général, la membrane de chaque compartiment peut contenir une distribution de canaux différente.

En nous guidant sur le modèle illustré à la figure 1.B3.17, nous allons maintenant nous pencher sur les trois différences (la présence de myéline, la non uniformité de la distribution des canaux et la possibilité de conductances potentiellement différentes) qui pourraient remettre en question l'utilisation du modèle HH pour représenter un axone myélinisé.

L'effet de la myéline. Avec le modèle de la figure 1.B3.17, la question de l'applicabilité du modèle HH ne dépend plus que de la composition des membranes de chaque compartiment et devient entièrement indépendante de la présence ou non de myéline. En effet, le modèle HH sert à décrire les courants traversant une membrane ; il ne suppose aucune hypothèse sur la nature, la taille ou la forme des compartiments dont cette membrane fait partie.

Quel est donc l'effet de la myéline ? Cette dernière a une épaisseur considérable pouvant atteindre 2500 nm (Sanders 1948) et elle est faite d'un corps gras semblable à de l'huile (voir section 1.A). Par conséquent, on peut la considérer comme un très bon isolant électrique, ce qui a deux effets. Premièrement, le courant net qui traverse la membrane vers le milieu extracellulaire dans les compartiments myélinisés est négligeable comparativement à celui qui traverse dans les compartiments non myélinisés. Dans le modèle HH, ceci équivaut à réduire toutes les conductances des compartiments myélinisés par un facteur commun, qui n'affecte pas la validité du modèle et peut être aussi élevé que souhaité ; en première approximation, nous supposons que ce facteur est infini et qu'*aucun* courant ne traverse. (Ainsi, la composition des membranes dans les compartiments myélinisés n'a plus aucune importance.)

Deuxième effet : considérant l'épaisseur de la myéline qui est 20 à 500 fois celle d'une membrane, on s'attend aussi à ce que la couche de myéline diminue substantiellement la capacité par unité de surface du compartiment (qui est donnée par $C = \varepsilon A/L$, donc est inversement proportionnelle à l'épaisseur).

Les avantages de la myéline. Avant même de nous pencher sur la nature des courants qui traversent la membrane aux noeuds de Ranvier, on peut souligner une première prédiction importante : pour un même courant circulant entre deux compartiments adjacents, les compartiments myélinisés *vont se charger des centaines de fois plus vite* que ceux sans myéline. En effet, leur capacité est nettement plus faible, alors que la conductance κ qui les relie est la même, le diamètre interne de l'axone étant constant. Leur constante de temps «*RC*» est donc d'autant plus faible que la myéline a diminué la capacité. Ainsi, un des principaux effets de la myéline est de permettre à l'influx nerveux *de voyager bien plus vite*. Dans un axone myélinisé, il faut faire croître le rayon pour obtenir le même résultat. Mais un vertébré peut stocker des centaines d'axones côte à côte dans le même espace que celui occupé par un seul axone de calmar. L'avantage évolutif de la myélinisation est donc indéniable.

Plus précisément, la propagation de l'influx nerveux se fait à vitesse élevée seulement dans les portions myélinisées, alors qu'elle conserve dans les noeuds de Ranvier la même vitesse que dans un axone lisse du même rayon. En apparence, l'influx nerveux semble donc *bondir* d'un noeud de Ranvier au suivant. Ce phénomène a conséquemment été baptisé **conduction saltatoire** («par saut»).

Un autre avantage de la myéline, en plus de la vitesse de conduction et de l'économie d'espace, est qu'elle empêche le courant transmembranaire de traverser là où elle est présente. Cela signifie que les pompes Na/K n'ont besoin de retransporter les ions qu'aux noeuds de Ranvier, ce qui représente une économie d'énergie considérable. Le rôle des

noeuds de Ranvier est donc d'injecter de la nouvelle énergie pour remplacer celle disparue en pertes ohmiques entre deux noeuds de Ranvier (dans la puissance dissipée par κ) afin de soutenir le potentiel d'action.

Plus précisément, quand un noeud de Ranvier déclenche un potentiel d'action, le courant initié dans la zone myélinisé doit être suffisant pour, malgré les pertes ohmiques, charger la capacité de cette dernière, charger la capacité du noeud suivant et faire atteindre à ce dernier la tension qui correspond au seuil d'excitation. Des noeuds de Ranvier trop distants rendraient cela impossible, ce qui produirait un **échec de propagation**.

En somme, la conduction saltatoire ressemble qualitativement à la chute d'une file de dominos : la chute de chaque domino convertit une quantité finie de l'énergie potentielle en énergie cinétique ; si la distance entre ce domino et le suivant est suffisamment courte, la collision transférera de l'énergie vers le domino suivant. S'ils sont trop distants, cela ne suffira pas à causer la chute du domino suivant.

En pratique, l'évolution a favorisé des distances optimales entre les noeuds de Ranvier ; l'échec de propagation est donc rare dans un neurone sain, ne pouvant se produire qu'à des embranchements par exemple. Toutefois, nous verrons dans nos travaux de recherche qu'il peut devenir chose courante dans un axone endommagé.

La distribution des canaux. Nous revenons maintenant à la question de l'applicabilité du modèle HH en nous penchant sur la seconde question que nous avons soulevée : les canaux ne sont pas distribués de façon uniforme dans un noeud de Ranvier. Dans un cas où il s'agirait de la seule différence entre la membrane d'un axone myélinisé et celle d'un axone géant de calmar, on peut facilement déduire que le modèle HH demeurerait applicable. En effet, en supposant qu'on veuille utiliser plusieurs compartiments par noeud de Ranvier, il suffirait d'augmenter la valeur maximale $g_{\mathrm{Na}}^{\mathrm{max}}$ au compartiment central et de faire de même pour le potassium dans les compartiments périphériques du noeud de Ranvier. Une autre possibilité serait d'utiliser un seul compartiment par noeud de Ranvier et de supposer que le potentiel de membrane est relativement uniforme dans l'entièreté du noeud malgré la non uniformité de la composition de son axolemme. C'est cette dernière option que nous retiendrons au chapitre 3, où nous présentons la conception du modèle numérique utilisé pour nos travaux de recherche.

Comparaison des conductances. Ce qui pourrait rendre l'application du modèle HH difficile, cependant, serait l'ajout de conductances tensiodépendantes supplémentaires ou encore des différences importantes dans la cinétique des conductances. Nous nous penchons maintenant sur cette dernière question.

Diverses expériences ont permis de comparer, chez plusieurs espèces de vertébrés, les conductances des membranes avec celles mesurées par Hodgkin et Huxley dans l'axone géant de calmar. Frankenhaeuser, a réussi dans une série d'expériences à utiliser la technique du voltage clamp sur des noeuds de Ranvier de neurones de grenouilles (Frankenhaeuser 1958). Sa conclusion principale est que les courants de sodium et de potassium dominent le phénomène du potentiel d'action dans ces axones myélinisés, tout

comme ils le font dans les axones non myélinisés du calmar. Ces courants demeurent similaires à ceux prédits par le modèle HH, bien qu'il existe des différences quantitatives.

Ensuite, Moore 1978 a utilisé un modèle similaire à celui illustré à la figure 1.B3.17, où chaque intervalle de myéline était modélisé grâce à 10 compartiments et où les noeuds de Ranvier étaient modélisés grâce aux équations du modèle HH, pour produire une simulation numérique complète. Or, ce modèle a prédit à moins de 5% d'écart les vitesses de propagation observées pour plusieurs ensembles de paramètres mesurés expérimentalement. Pour obtenir ce résultat, Moore a augmenté toutes les conductances du modèle HH par un facteur 10 pour tenir compte de la forte concentration des canaux au noeud de Ranvier.

Malgré ces succès chez certaines espèces, plusieurs expériences ont montré chez d'autres vertébrés que le courant de potassium tensiodépendant était très faible. (Ceci pourrait notamment être dû au fait que les canaux K_V sont situés en périphérie du noeud de Ranvier, là où la myéline commence déjà à recouvrir la membrane.) Chez le lapin, il a été mesuré que la principale cause de la phase de repolarisation du potentiel d'action n'est pas le potassium qui traverse des canaux K_V mais plutôt une forte composante de potassium *dans les courants de fuites non tensiodépendants* (Chiu 1979). Un résultat identique a par la suite été obtenu dans une expérience portant sur des nerfs humains (Schwarz 1995).

Notons que ces articles ne reportent une différence notable qu'à propos du courant de potassium ; le courant de sodium, lui, conserve un comportement analogue à celui observé chez le calmar. Cette analogie découle sans doute du fait que les différents variantes génétiques de canaux Na_V, sur lesquelles nous reviendrons dans la section 1.C, ont toutes des cinétiques et des courbes d'activation et d'inactivation relativement comparables (Hille 2001, chap. 3).

Quelles conséquences ont ces différences du point de vue de l'utilisation du modèle HH ? Clairement, on peut s'attendre à ce que les similitudes des courants sodiques fassent en sorte que la dynamique du bord d'attaque du potentiel d'action, dominée par le courant de Na^+, demeure essentiellement la même. Les différences de courant de potassium, elles, peuvent entraîner des différences dans la durée du potentiel d'action ou dans la durée de la phase réfractaire, mais ne changent pas de façon fondamentale le comportement de la membrane.

En somme, *les équations de Hodgkin et Huxley demeurent un excellent modèle pour représenter la membrane des noeuds de Ranvier, dans la mesure où on ne s'attarde pas aux détails quantitatifs de chaque potentiel d'action*.

La littérature confirme cette conclusion. En effet, le modèle HH est largement utilisé pour représenter des axones myélinisés, bien qu'on le trouve parfois sous une forme modifiée. Par exemple, Schwarz (1995) a modélisé ses résultats sur des nerfs humains en utilisant des paramètres différents et en ajoutant un second courant de potassium, dit «lent». Il n'en demeure pas moins que la structure de son modèle est fondamentalement celle du modèle HH et non celle d'un modèle original. En général, la littérature montre que le modèle HH continue d'être utilisé avec succès pour représenter la propagation dans un

axone myélinisé (Ochab-Marcinek 2009, Li 2010, Boucher 2012, Hallermann 2012, Young 2013, etc. ; voir aussi Scott 2002, chap. 7).

Notons enfin une dernière nuance : chez les vertébrés, les mesures montrent que la rectification est plus importante que celle des courants dans une membrane d'axone géant de calmar. Plusieurs auteurs, dont Schwarz (1995), ont donc jugé bon de remplacer les courant quasi-ohmiques par des courants GHK (voir l'appendice B) quand ils utilisaient le modèle HH pour décrire un axone myélinisé (voir Hille 2001, chap. 14, pour de nombreuses références à ce sujet). Néanmoins, la rectification mesurée demeure petite, de sorte que l'équation 1.B2.4 demeure utilisable en première approximation, ce que nous ferons dans nos travaux de recherche.

Guide de lecture 1.B

Nous terminons cette section avec quelques conseils de lecture pour le néophyte. Le lecteur qui n'a aucune base en biologie bénéficierait de la base conceptuelle pouvant d'abord être acquise dans un manuel introductif en biologie. Par exemple, dans Campbell 2007, il pourra lire sur les propriétés électriques des membranes (chap. 7) et rencontrer une description qualitative mais succincte du mécanisme d'un potentiel d'action (chap. 48).

Une fois cette étape franchie, une lecture introductive plus axée sur les aspects physiques ou mathématiques s'impose. De nombreux choix s'offrent alors au lecteur et la plupart d'entre eux présenteront l'essentiel du contenu de notre section 1.B : Sterratt 2011 propose une bonne présentation des propriétés des membranes, suivie de la meilleure introduction expérimentale au modèle HH (laquelle a d'ailleurs inspiré la séquence du bloc 2 de notre troisième sous-section) ; c'est aussi un ouvrage axé sur la modélisation visant des travaux numériques comme les nôtres. Nelson 2008 est simple à lire et insiste sur la mécanique moléculaire, mais est incomplet : s'il est le seul à aborder l'équilibre de Donnan, il est aussi le seul à ne pas présenter entièrement les équations du modèle HH. Hille 2001, une source axée surtout sur les canaux ioniques, est aussi très abordable, du moins dans sa première partie.

Le lecteur plus avancé devrait aborder Scott 2002, où les modèles sont systématiquement abordés avec les outils de la dynamique non linéaire. Il est recommandé d'être déjà familier avec ces outils, à un niveau qui dépasse notre appendice A, avant d'aborder l'ouvrage de Scott. (Sinon, Strogatz 1994 présente une excellente introduction à la dynamique non linéaire).

Scott 2002 et Sterratt 2001 abordent tous deux des réductions du modèle HH, le premier d'un point de vue dynamique et le second, d'un point de vue numérique.

La plupart des articles qui ont été cités dans cette section 1.B concernent un point de détail ou ont été cités à des fins historiques ou dans le but d'accorder le mérite du travail à ses auteurs. Par contre, certains d'entre eux méritent davantage une lecture. Le processus de construction d'un modèle peut être abordé par la lecture de Hodgkin 1952e, Morris 1981 ou Schwarz 1995. De même, le lecteur intéressé par les *techniques expérimentales* peut consulter Hamill 1981 qui présente les diverses variantes de la technique du patch clamp

ou Laüger 1991, qui consacre un chapitre entier aux méthodes expérimentales permettant d'étudier les pompes ioniques (dont plusieurs sont des méthodes polyvalentes permettant aussi d'étudier des canaux ioniques). Les techniques expérimentales présentées dans Hodgkin 1952a peuvent être consultées pour leur intérêt historique.

1.C) Biochimie des trois protéines fondamentales

Dans cette troisième section, nous profitons de ce qui a été présenté dans la section 1.B pour approfondir la description des trois principales protéines qui jouent un rôle dans notre modèle numérique, c'est-à-dire les pompes Na/K, les canaux tensiodépendants à K^+ et les canaux tensiodépendants à Na^+. La pompe et les canaux font l'objet de deux sous-sections séparées.

1.C1) Les pompes Na/K

Cette première sous-section porte sur les *Na^+,K^+-ATPases*, que nous rebaptisons plus simplement «pompes Na/K». À la section 1.B, nous avons déjà présenté le rôle immédiat de ces pompes, présentes dans la membrane plasmique de toute cellule animale, c'est-à-dire de réguler le gradient de concentration des ions Na^+ et K^+. Ici, nous présentons son fonctionnement moléculaire et élaborons ensuite sur ses effets (électriques) indirects.

1.C1.1 La structure des pompes Na/K

Dans la section 1.B, nous avons montré comment la simple mesure des concentrations internes et externes de diverses espèces ioniques et l'observation que leur potentiel de Nernst était très éloigné du potentiel de repos de la membrane cellulaire avait suffit à conclure que toute cellule animale devait disposer d'un mécanisme lui permettant de se maintenir ainsi très loin de l'équilibre. Plus particulièrement, c'est l'«anomalie du sodium» et le déséquilibre du potassium qui sont les plus importants. Ils ont donc conduit à l'hypothèse qu'il existait une pompe Na/K.

Peu de temps après qu'on ait ainsi postulé son existence, cet enzyme a été isolé dans les années 1950 à partir de membranes de nerfs de pattes de crabe, homogénéisées et centrifugées (Skou 1957). Ces travaux initiaux n'ont permis que de montrer que la pompe Na/K est une ATPase (*ie*. elle hydrolyse de l'ATP) et que son activité enzymatique augmentait sous l'effet de concentrations conjointes de Na^+ et de K^+. Toutefois, cet enzyme a fait l'objet de très nombreuses expériences présentées dans une imposante monographie sur les pompes ioniques (Läuger 1991) et dans plusieurs revues plus récentes (notamment Scheiner-Bobis 2002, Rigoard 2009 et Toyoshima 2011, la seconde étant en français).

Nous allons maintenant donner un aperçu de ces travaux en esquissant la structure de la pompe Na/K. Nous poursuivrons ensuite en abordant son fonctionnement. Évidemment, notre intention n'est pas d'être exhaustif : l'objectif est d'introduire les aspects qui permettront ensuite de modéliser l'effet électrique des pompes dans un neurone.

Sous-unités. Comme nous l'avons évoqué dans la section 1.A, la pompe Na/K est une protéine ayant une structure quaternaire : faite de deux sous-unités protéiques essentielles à son fonctionnement, α et β, elle comporte dans certains tissus biologiques une troisième sous-unité non essentielle (appelée *protéine FXYD*) jouant un rôle de régulation. Les sites actifs de la pompe sont tous localisés sur la sous-unité α, mais la sous-unité β est requise pour que la protéine adopte correctement sa conformation et s'insère dans la membrane. Chez l'humain, il existe quatre **isoformes** (*ie*. «variantes génétiques») de la sous-unité α, trois de la sous-unité β et sept de la protéine FXYD ; de plus, la sous-unité β comporte de nombreux groupements glucidiques. Ceci conduit à de nombreuses variantes de la pompe

Na/K, qui diffèrent notamment par leurs affinités pour l'ATP ou pour les ions transportés. La **figure 1.C1.1** illustre, de trois façons, la structure des deux sous-unités principales.

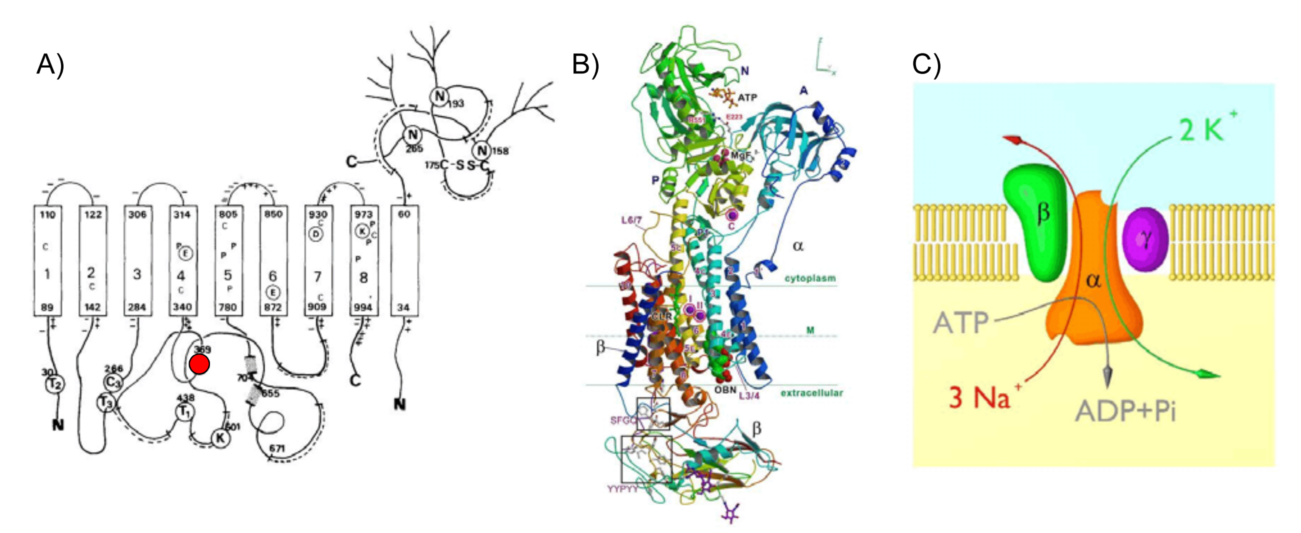


Figure 1.C1.1 A) structure primaire des sous-unités α et β, respectivement à gauche et à droite ; la première, surtout située dans le cytosol, a 8 portions transmembranaires alors que la seconde, surtout située hors de la cellule, en a une seule. Le cercle rouge identifie le site de phosphorylation, alors que les deux rectangles gris à sa droite identifient une partie des segments qui forment le site de liaison de l'ATP. **B)** structure tertiaire des deux mêmes sous-unités, obtenues en faisant cristalliser les protéines figées dans leur conformation E_2 par la liaison d'un inhibiteur (la *ouabaine*, identifiée OBN sur la figure) ; les ions K^+ liés sont identifiés **I** et **II** sur la figure et leur liaison est attribuée à un léger coude dans les hélices α, lequel expose des groupements polaires du squelette polypeptidique. **C)** schéma montrant l'assemblage des sous-unités. Notez que les côtés interne et externe sont inversés sur le panneau B) par rapport aux deux autres. (Figures adaptées respectivement de Läuger 1991, Toyoshima 2011 et Rigoard 2009)

Caractéristiques structurales. Comme nous l'avons aussi évoqué dans la section 1.A, la pompe Na/K possède plusieurs sites actifs :

- *Site de liaison de l'ATP* : on trouve, du côté cytosolique de la pompe, une poche hydrophobe qui lui permet d'interagir avec les groupements adénine et ribose de l'ATP. Ce site de liaison est formé d'acides aminés hydrophobes trouvées dans plusieurs portions non consécutives du polypeptide, dont deux sont identifiées par des rectangles gris sur le panneau A) de la figure ci-dessus.
- *Site de phosphorylation* : la pompe Na/K est une pompe de type P, ce qui signifie qu'un des états intermédiaires de son cycle de fonctionnement est phosphorylé. On dit qu'une protéine est **phosphorylée** quand le groupement phosphate libéré par l'hydrolyse de l'ATP lui demeure liée de façon covalente au lieu d'être libéré dans le cytosol sous forme d'ion. Ici, le site de phosphorylation est un acide aminé (aspartate), identifié P sur le premier panneau de la figure et qui appartient à une séquence *fortement conservée*[20] du polypeptide α.
- *Sites de liaison ionique* : la protéine comporte trois sites de liaison capables de lier et d'ensuite piéger les ions Na^+ ou K^+ afin de les transporter d'un côté de la membrane à l'autre. Les sites de liaison **I** et **II**, identifiés sur le panneau B) de la figure, peuvent lier

[20] Ce terme signifie que cette séquence du polypeptide est présente chez toutes les pompes de type P malgré les nombreuses variations introduites par l'évolution ailleurs dans le polypeptide.

ces deux espèces ioniques, mais le site III ne peut lier que Na^+. Cet aspect est le plus important : la pompe peut lier trois ions sodium mais seulement deux ions potassium. Les sites de liaison sont localisés à un endroit où des hélices α forment un léger coude.

Comme toutes les pompes de type P, la pompe Na/K possède deux conformations principales, baptisées E_1 et E_2, pour lesquelles les sites de liaison ionique sont accessibles respectivement depuis le cytosol et depuis le milieu extracellulaire. Les sites de liaison I et II ont une meilleure affinité pour le Na^+ dans la conformation E_1 mais une meilleure affinité pour le K^+ dans la conformation E_2. On peut représenter cette situation par une image mentale simple (Gadsby 2009) où la pompe comporte une unique «cavité de liaison», localisée dans sa partie transmembranaire, à laquelle deux «portes», situées de part et d'autre, donnent accès *en alternance*. Pendant le changement entre la conformation E_1 et la conformation E_2, la protéine passe par un état intermédiaire où les ions sont *piégés* dans la cavité (*ie*. les deux portes sont simultanément fermées).

La «cavité de liaison» n'occupe pas toute l'épaisseur de la membrane : du côté extracellulaire, la protéine comporte un profond vestibule permettant aux ions d'accéder à la cavité et au fond duquel se trouvent des chaînes latérales acides ne laissant passer que les ions positifs. Ce profond vestibule a de l'importance pour la cinétique de la pompe : en son absence, chaque ion de charge q transporté au travers de la membrane devrait franchir une barrière d'énergie qV, où V est le potentiel de membrane. La largeur du vestibule fait en sorte que le champ électrique qui y règne est plus faible que dans la membrane, donc que la barrière qV est réduite (Reves 2006).

1.C1.2 Fonctionnement de la pompe Na/K

Pour pomper les ions Na^+ vers l'extérieur de la cellule et K^+ en sens inverse, la pompe Na/K passe par une séquence cyclique de changements de conformations dont chacune est induite par la liaison des ions, la liaison de l'ATP, la phosphorylation de la protéine ou les fluctuations thermiques. De nombreuses expériences ont permis d'identifier des états intermédiaires dans lesquels la pompe se trouve à un moment ou un autre de son cycle ainsi que de caractériser des transitions entre ces états. Assembler ces «pièces de casse-tête» a permis de construire un modèle du cycle, qui porte le nom de **schème de Post-Albers** et selon lequel le cycle de pompage comporte six étapes (initialement Albers 1967, Post 1972). Ces dernières sont schématisées à la **figure 1.C1.2**, où le dessin de la pompe, bien que naïf,

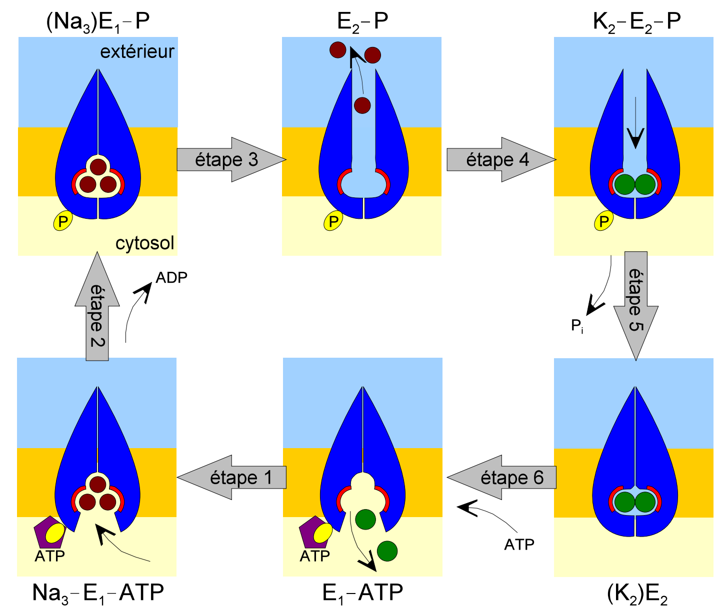


Figure 1.C1.2 La pompe Na/K expulse le Na^+ et importe le K^+ en un cycle de six étapes décrites dans le texte. Les sites de liaison ionique **I** et **II**, situés dans la portion transmembranaire, sont illustrés en rouge. Les conformations E_1 et E_2 peuvent être reconnues grâce à la couleur du milieu qui baigne ces sites.

évoque relativement bien les caractéristiques géométriques de cette dernière.

Voici les six étapes de transition illustrées sur la figure :

- Au cours de l'étape 1, la présence d'ATP liée à la protéine stabilise la conformation de cette dernière pendant que trois Na^+ en provenance du cytosol rejoignent les trois sites de liaison qui ont une forte affinité pour le Na^+.
- La seconde étape est l'hydrolyse de l'ATP, qui phosphoryle la protéine. La phosphorylation cause un léger changement de conformation qui piège les ions (*ie*. les deux portes de la cavité sont fermées). On spécifie cette occlusion des ions en utilisant les parenthèses pour décrire l'état, soit $(Na_3)E_1{-}P$.
- À la troisième étape, les fluctuations thermiques provoquent le passage de la conformation E_1 à la conformation E_2. Ce changement met les sites de liaison en contact avec le milieu extracellulaire (*ie*. la porte extérieure de la cavité est ouverte) et en modifie subtilement la géométrie[21], de sorte qu'ils ont désormais beaucoup plus d'affinité pour le K^+ que pour le Na^+. En conséquence, les Na^+ sont libérés hors de la cellule. (Cette libération suit une séquence, le site III étant libéré en premier, comme le laisse entendre notre dessin sur la figure.)
- Ensuite, deux ions K^+ en provenance du milieu extracellulaire se lient aux sites qui viennent d'être libérés.
- On observe que la liaison du K^+ provoque ou permet la déphosphorylation de la pompe, ce qui constitue la cinquième étape. Cette libération du phosphate cause un léger changement de conformation qui piège les ions (*ie*. les deux portes sont à nouveau fermées).
- Enfin, la liaison d'ATP du côté cytosolique provoque le passage de la conformation E_2 vers la conformation E_1, ce qui met les sites de liaison en contact avec le cytosol (*ie*. la porte interne est ouverte) et restitue leur affinité pour Na^+. En conséquence, les deux K^+ sont libérés dans le cytosol.

Sur le plan énergétique, il est intéressant de souligner que l'apport d'énergie (par l'hydrolyse de l'ATP) ne survient qu'à une seule des étapes du cycle, l'étape 2. Cela signifie que le système dans l'état $(Na_3)E_1{-}P$ doit contenir nettement plus d'énergie libre que dans les autres états ; cette énergie stockée est ensuite libérée graduellement dans les autres étapes du cycle, la majeure partie étant transférée aux ions qui sont pompés contre leur gradient électrochimique.

Limites du schème de Post-Albers. Le schème de Post-Albers illustré à la figure 1.C1.2 est corroboré par la grande majorité des observations expérimentales et explique le fonctionnement *normal* de la pompe. Toutefois, il existe des situations non physiologiques (par exemple, l'absence totale de Na^+ ou de K^+) où la pompe effectue des transitions qui n'apparaissent pas sur cette figure (Plesner 1985a,b ; Sachs 1991 ; Glynn 2002 ; Monti 2013 ; voir aussi Läuger 1991, chap. 8).

---

[21] Läuger 1991 (chap. 2) suggère un mécanisme géométrique permettant d'expliquer le changement d'affinité des sites de liaison : chaque site étant situé entre deux hélices α (voir le panneau B de la figure 1.C1.1), on attribue la liaison à des charges ou des groupements polaires que portent ces deux hélices et qui ceinturent les ions liés ; lors du changement entre les conformations E_1 et E_2, la rotation ou l'éloignement mutuel des deux hélices change la grosseur optimale de l'ion pouvant interagir avec ces groupements.

De plus, la pompe peut déroger de son fonctionnement normal en effectuant divers gaspillages : laisser passer un ion dans le sens de son gradient électrochimique, permettre la libération du phosphate lié sans jamais passer par la configuration E_2 permettant le pompage (*ie*. gaspillage d'un ATP), etc. Plusieurs de ces gaspillages impliquent des conformations intermédiaires qui n'apparaissent pas sur la figure 1.C1.2 (Läuger 1991, chap. 8).

Enfin, des études récentes indiquent que la liaison successive de chaque ion transporté suit une séquence précise, chaque liaison introduisant un léger changement de conformation ; ces conformations sont des intermédiaires entre celles illustrées (Yaragatupalli 2009, Poulsen 2010, Gadsby 2012, Holmgren 2000).

1.C1.3 Les courants causés par la pompe Na/K

Maintenant que nous avons présenté la structure et le fonctionnement de la pompe Na/K, nous pouvons nous attarder aux courants qu'elle produit. Trois aspects sont pertinents pour nos travaux : 1) la pompe produit un courant de Na^+ environ 1,5 fois plus grand que son courant de K^+. 2) ces courants ont un effet sur les propriétés de la membrane 3) ces courants fluctuent dans le temps.

Ratio de couplage. Dans les conditions physiologiques normales, les sites de liaison dans la conformation E_1 doivent sélectionner les ions Na^+ malgré la présence de nombreux autres ions dans le cytosol, dont une concentration élevée de K^+. De même, dans la conformation E_2, ils doivent sélectionner les ions K^+ malgré la présence d'une forte concentration de Na^+. Il appert que la liaison du Na^+ est nettement plus sélective que celle des K^+, auxquels peuvent se substituer avec une affinité comparable Rb^+, Cs^+, Li^+, NH_4^+ et même des ions organiques (Ratheal 2010).

Notre présentation de la structure de la pompe et de ses sites de liaison a montré qu'elle a un rapport stoechiométrique de $3Na^+/2K^+$ (voir notamment la figure 1.C1.2, où ces sites sont illustrés). Toutefois, puisque la pompe peut «se tromper d'ions» ou effectuer des transitions anormales entre deux états, il faut distinguer ce rapport stoechiométrique (rapport du nombre de sites de liaison) et le **ratio de couplage** (rapport des courants de Na^+ et de K^+ réellement mesurés).

Or, dans des conditions physiologiques, plusieurs expériences ont mesuré que le ratio de couplage s'éloigne très peu du rapport 3/2 (Sen 1964 ; Cornelius 1990 ; voir aussi Läuger 1991, section 8.7), ce qui s'explique notamment par la quasi-absence des substituts du K^+ dans le milieu extracellulaire. En somme, pour les fins de notre modélisation au chapitre 3, on pourra considérer que, sous des conditions normales, pour chaque ATP consommé, la pompe transporte *trois* ions Na^+ de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule alors que *seulement deux* ions K^+ sont transportés vers l'intérieur. C'est d'ailleurs ce que nous avons fait en formulant l'équation 1.B2.8, c'est-à-dire $J_{\text{Na,pmp}} = -\frac{3}{2} J_{\text{K,pmp}}$.

Propriétés électrogènes de la pompe. Puisque qu'elle transporte un nombre inégal d'ions dans les deux sens (qu'elle se trompe d'ions ou non), la pompe Na/K est **électrogène**, c'est-à-dire qu'elle produit un courant électrique net au travers de la membrane. Ce courant

a trois effets :

- Premièrement, il a un effet hyperpolarisant qui réduit (légèrement) le potentiel de repos V_0 du neurone.
- Deuxièmement, ce même effet hyperpolarisant augmente indirectement l'intensité requise du stimulus permettant d'atteindre le seuil d'excitation.
- Troisièmement, les propriétés électrogènes de la pompe causent un effet sur la cinétique de cette dernière : en effet, la charge q_{nette} qui traverse la membrane à chaque cycle doit pour ce faire franchir une barrière énergétique $q_{nette}V$ (qui s'ajoute à la barrière d'énergie libre due à la baisse d'entropie). Si cette barrière $q_{nette}V$ croît, le cycle de la figure 1.C1.2 (vu comme un tout) est défavorisé, ralentit et peut même s'inverser. On s'attend donc à ce que le courant net (donc les deux composantes du courant présentes dans l'équation 1.B2.8) dépendent de V. On mesure d'ailleurs qu'une tension $V \approx -200$ mV inverse le courant le pompage. Une description détaillée de la cinétique de la pompe doit donc tenir compte de V. Nous verrons toutefois que cet effet est négligé dans notre modèle.

La pompe est une machine stochastique. Deux phénomènes peuvent conduire à des fluctuations des courants de Na^+ et de K^+ dans le temps, malgré des conditions identiques. La première correspond aux erreurs de sélectivité des sites de liaison, que nous venons de décrire. Une autre source de fluctuations découle du fait que chaque étape de transition illustrée à la figure 1.C1.2 peut aussi se produire en sens inverse, bien qu'avec une probabilité plus faible. (En fait, dans des conditions non physiologiques où les gradients de concentration sont tous inversés, la pompe peut effectuer le cycle complet à l'envers, synthétisant de l'ATP grâce au passage de Na^+ et de K^+ qui suivent leurs sens normal de diffusion[22].)

Un cycle normal de la pompe n'est donc pas fait d'exactement six transitions mais a plutôt l'allure d'une marche aléatoire biaisée dans le sens indiqué par les flèches sur la figure. Ainsi, par exemple, la pompe peut osciller plusieurs fois entre les états $(Na_3)E_1-P$ et E_2-P avant de finalement lier les deux ions K^+ qui stabilisent la conformation E_2. Il s'ensuit que chaque cycle est différent des cycles précédents et a notamment une durée différente. En d'autres termes, le courant électrique net produit par la pompe n'est pas constant dans le temps.

Dans notre article de recherche présenté au chapitre 4, nous verrons que certaines de nos simulations tiendront compte des fluctuations statistiques en introduisant une composante de bruit.

1.C1.4 La cinétique de la pompe Na/K

Dans une perspective de modélisation, une question que nous devrons nous poser au chapitre 3 est de savoir comment les courants $J_{Na,pmp}$ ou $J_{K,pmp}$ peuvent être calculés. Jusqu'à présent, nous savons seulement avec quel ratio ces deux courants sont reliés. La question qui demeure est donc de savoir *combien de cycles* complets par seconde une

[22] Il ne faut pas confondre ce fonctionnement à rebours, dû à l'inversion des gradients de concentration, avec celui qui se produit sous des concentrations normales quand $V < -200$ mV.

population de pompes Na/K effectue.

D'abord, présentons un ordre de grandeur : dans des conditions physiologiques, chaque pompe Na/K transporte à peine quelques dizaines d'ions par seconde. Même dans des conditions idéales (saturation d'ATP et d'ions transportés), une pompe Na/K n'excède pas un taux de 200 ions/s. Comme nous le verrons à la sous-section 1.C2, ce taux est *extrêmement faible* comparativement au débit des ions qui traverse un canal ionique (10^6-10^7 ions/s). D'ailleurs, après le passage de quelques potentiels d'action, les pompes mettent *plusieurs secondes*, bien plus longtemps que la durée des potentiels d'action, à rétablir les concentrations initiales d'ions Na^+ et K^+.

Entre «quelques dizaines» et «200» ions/s en moyenne pour chaque pompe, quelle est l'activité de la population de pompes dans des conditions données ? En général, elle dépend à la fois des concentrations des substrats, du potentiel de membrane et des taux de transition entre les états possibles de la pompe. Calculer le nombre moyen de cycles par seconde effectués par les pompes implique donc de nous pencher sur la cinétique de toutes les transitions illustrées à la figure 1.C1.2.

Läuger 1991 (section 8.5) présente avec soin une telle modélisation détaillée : il débute en identifiant par une variable différente la proportion des pompes qui se trouvent à un temps *t* dans chaque état. Ensuite, il établit les équations décrivant le taux de transition entre ces états, un peu comme nous l'avons fait aux équations 1.A.2 à 1.A.4 : chaque taux de transition est proportionnel à la proportion des pompes dans l'état de départ, de même qu'à la concentration de la molécule liée au cours de la transition, s'il y a lieu (ATP, ADP, groupement phosphate, ion transporté). Ensuite, Läuger établit que ces taux de transition sont reliés entre eux puisque le processus est cyclique et que certaines étapes peuvent être considérées comme à l'équilibre. Enfin, il présente des mesures permettant d'évaluer les constantes de proportionnalité (constantes cinétiques) de chaque transition. Rappelons aussi que nous avons établi plus haut que les transitions qui ont pour effet de déplacer de la charge perpendiculairement à la membrane ont un taux qui doit dépendre du potentiel de membrane *V*.

Une telle approche détaillée n'est pas viable dans une perspective de simulation numérique comme celle de nos travaux de recherche : si on suppose qu'on intègre numériquement les équations pendant 10^5 pas temporels, il ne faut pas que chacune de ces itérations nécessite d'évaluer toutes ces transitions. Clairement, nous devons identifier les étapes les plus déterminantes pour simplifier le modèle cinétique de la pompe. Heureusement, une observation-clé nous permettra de faire cela au chapitre 3 : les mesures de constantes cinétiques présentées par Läuger lui font conclure qu'en présence de conditions normales, c'est-à-dire d'une abondance d'ATP et de gradients de concentration normaux pour Na^+ et K^+, l'interaction des ions Na^+ et K^+ avec les sites de liaison sont les deux étapes les plus limitantes pour la vitesse de la pompe (Läuger 1991, section 8.5.4)

1.C1.5 Un peu de vocabulaire expérimental

La construction du schème de Post-Albers ou l'étude structurale de la pompe Na/K reposent sur des dizaines d'expériences distinctes que nous n'allons pas revoir ici. Par contre, du vocabulaire de base sur ces techniques peut être requis au lecteur qui aborde

la littérature correspondante pour la première fois. Voici quelques termes pertinents, formant une liste qui est loin d'être exhaustive :

- Une façon d'étudier la cinétique d'une transition consiste à mesurer son activité transitoire en réponse à un changement brutal dans la concentration d'un réactif. Pour effectuer de tels changements brutaux, on utilise des **réactifs mis en cage** «caged reactives». Mettre en cage une molécule signifie lui ajouter un lourd groupement qui la rend incapable de se lier aux sites actifs de la molécule étudiée. On utilise ensuite un flash lumineux pour dissocier ces groupements, ce qui libère simultanément toutes les molécules qui étaient mises en cage et provoque l'effet recherché, soit un gain très rapide de concentration.

- Comme le souligne la légende de la figure 1.C1.1, la **ouabaine** est un inhibiteur qui permet de figer la pompe dans une de ses conformations. Ainsi, quand un article rapporte qu'un courant ou une conductance est «*oubain-sensitive*», cela révèle que les pompes Na/K sont impliquées d'une façon ou d'une autre. Plusieurs autres inhibiteurs, moins fréquemment utilisés, entraînent l'utilisation d'un vocabulaire similaire.

- Pour identifier au microscope des protéines comme la pompe Na/K, on utilise la technique du **marquage fluorescent** (*fluorescent labelling*). Cette dernière consiste à utiliser un pigment fluorescent, appelé **fluorochrome**, qui réagit en se liant de façon covalente à un groupe fonctionnel de la protéine étudiée.

- La comparaison de différents isoformes d'une protéine permet parfois d'identifier une séquence d'acides aminés qui est toujours parfaitement la même. Une telle séquence est dite **hautement conservée** par l'évolution. Il s'agit d'un indice révélant que cette séquence est essentielle au bon fonctionnement de la protéine.

- L'étude de la structure peut bénéficier de l'utilisation d'enzymes digestifs comme la **trypsine**, qui clivent les polypeptides seulement à un faible nombre d'endroits.

1.C1.6 L'évolution et les rôles biologiques de la pompe Na/K

Nous terminons cette sous-section avec une ouverture sur l'origine des pompes Na/K dans l'évolution et sur les nombreux rôles qu'elles jouent aujourd'hui.

Les pompes Na/K sont présentes dans toutes les cellules animales et non les seuls neurones. Clairement, elles sont donc apparues au cours de l'évolution bien avant que ce ne soit le cas des phénomènes nerveux. Pourquoi ?

En l'absence de pompes, les gradients de concentration s'estomperaient en bonne partie et la membrane des cellules s'approcherait de l'équilibre de Donnan. Or, comme nous l'avons calculé dans la section 1.B, toute cellule animale mourrait bien avant d'atteindre cet équilibre, puisque la concentration ionique interne totale serait bien plus élevée que la concentration ionique externe totale, causant un déséquilibre de pression osmotique qui ferait éclater toute cellule.

Il est donc fort probable que les pompes ont initialement été favorisées par l'évolution *afin*

de régler ce problème de déséquilibre de pression. Cela explique leur ubiquité dans les cellules animales. (Les cellules végétales, elles, ont trouvé une autre solution au déséquilibre de pression : s'entourer d'une paroi cellulosique rigide.) Selon cette interprétation, le potentiel de repos que génèrent les pompes a donc la saveur d'un accident ; il n'est pas leur raison-d'être.

Des rôles multiples. Même si la pompe Na/K ne servait initialement qu'à ce seul rôle, l'évolution a graduellement fait émerger des fonctions de plus en plus nombreuses qui dépendent des déséquilibres de concentrations que cette pompe produit. Le fonctionnement de l'influx nerveux est évidemment l'un de ces rôles, mais l'*alimentation de processus de transport* en est un autre : contrairement à la pompe Na/K, qui est alimentée directement par de l'ATP, bien d'autres pompes tirent leur énergie à même le gradient de concentration de Na^+.

Pour comprendre physiquement en quoi un gradient de concentration peut alimenter énergétiquement un processus quelconque, il faut faire appel à la mécanique statistique. Puisque l'accumulation de potassium dans la cellule ou de sodium hors de la cellule correspond à une diminution d'entropie S, comme nous l'avons dit à la section 1.B, alors elle correspond aussi *à une accumulation d'énergie libre*. Cette accumulation d'énergie libre peut théoriquement être utilisée pour alimenter n'importe quel procédé, pourvu qu'un dispositif permette de l'utiliser. *On peut donc dire que la membrane joue le rôle d'un accumulateur ou d'une pile, que la pompe Na/K permet de maintenir constamment chargée.* Et comme les piles de notre quotidien, celle-ci peut être utilisée à bien des fins, notamment le pompage d'autres ions.

Un exemple d'une pompe s'alimentant de cette façon est l'*échangeur Na/Ca*, dont le rôle est de pomper les ions Ca^{++} vers l'extérieur de la cellule. Chaque fois qu'un ion Na^+ traverse du côté où il est concentré vers celui où il l'est moins, de l'énergie libre est libérée. Chaque fois qu'un Ca^{++} traverse vers le côté où il est le plus concentré, de l'énergie libre est utilisée. L'échangeur Na/Ca effectue un cycle qui couple les deux procédés.

Comme nous le verrons au chapitre 3, un échec du pompage des ions Ca^{++} dans un neurone est un problème grave qui active des enzymes catalytiques et aboutit à la mort rapide de la cellule. Ainsi, les pompes Na/K sont désormais essentielles à la survie de toutes les cellules animales et ce pour une multitude de raisons.

1.C2) Les canaux tensiodépendants

À la section 1.B, nous avons évoqué le rôle primordial des canaux Na_V et des canaux K_V dans le mécanisme d'un potentiel d'action. Contrairement aux pompes, la découverte de ce rôle des canaux a été laborieuse, plusieurs modèles concurrents ayant été proposés pour expliquer l'origine des courants du modèle HH (Hille 2001, chap. 1-3), les canaux Na_V n'ayant été isolés qu'en 1981 (Hartshorne 1981). Dans cette sous-section, nous allons d'abord présenter les éléments de structure qui permettent de qualifier une protéine de «canal». Nous insisterons sur la structure des canaux Na_V et K_V. Ensuite, nous allons faire le lien entre le fonctionnement des canaux et les caractéristiques du modèle HH. Enfin, nous soulèverons quelques contradictions entre ce nouveau portrait moléculaire et le modèle HH, qui concernent l'inactivation des canaux Na_V. Comme toujours, nous

soulignerons les aspects qui seront pertinents pour la lecture des chapitres 3 et 4. De plus, à partir de cette section, nous respecterons l'usage moderne des termes «activation» et «inactivation», en les utilisant pour décrire le comportement *de canaux individuels* et non, comme à la section 1.B, celui des conductances globales.

1.C2.1 La structure des canaux tensiodépendants

Fondamentalement, un canal tensiodépendant doit comporter au moins trois parties fonctionnelles : 1) un pore aqueux qui traverse la membrane et que les ions pourront emprunter en diffusant de façon passive ; 2) un filtre de sélectivité qui favorise le passage de certains ions seulement ; 3) au moins une porte, dont l'ouverture est contrôlée par un «senseur de tension». Ces caractéristiques distinguent un canal d'une pompe, laquelle doit comporter au moins *deux* portes qui ne sont jamais ouvertes simultanément (Gadsby 2009). De plus, le débit d'un canal ouvert n'est limité que par la capacité des ions de diffuser dans l'étroit filtre de sélectivité, alors que le débit d'une pompe est limité par les délais d'ouverture et de fermeture des portes en alternance.

Sous-unités. Les canaux K_V sont des **tétramères**, c'est-à-dire que leur structure quaternaire est formée de quatre sous-unités α identiques et de quatre sous-unités β, aussi identiques. Il existe des *dizaines* d'isoformes de la sous-unité α, numérotés de K_V1.1 à K_V13.3 (Ranjan 2013). Dans cette nomenclature introduite dans Chandy 1991, le premier nombre indique la famille génétique et le second, l'ordre de la découverte. Ces isoformes varient notamment par la cinétique de leur activation mais aussi par leur réponse à divers traitements expérimentaux.

Les quatre sous-unités α identiques contiennent tout le nécessaire pour former un canal K_V fonctionnel (pore, filtre de sélectivité et senseur de tension) comme l'illustre la **figure 1.C2.1** mais les sous-unités β, entièrement localisées du côté du cytosol, ont un effet supplémentaire sur la cinétique du canal.

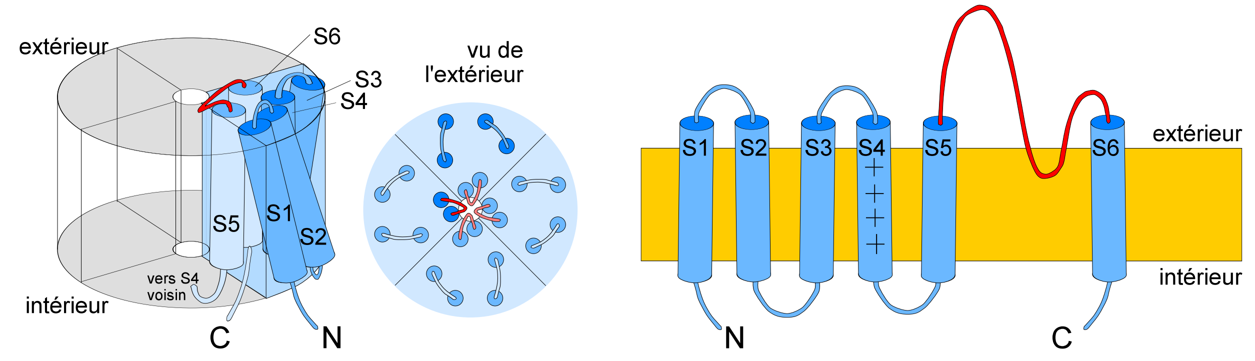


Figure 1.C2.1 Un canal K_V est formé de quatre sous-unités α identiques, comportant six hélices α transmembranaires numérotées de S1 à S6, illustrées ici de deux façons. Elles suffisent pour expliquer les trois caractéristiques d'un canal : 1) Chacune emboîtée avec leur voisine, elles s'assemblent pour former un pore entouré d'une large structure en forme de croix (panneau de gauche). 2) Elles comprennent chacune un segment qui ferme partiellement ce pore et forme le filtre de sélectivité du côté extracellulaire (segment en rouge). 3) Elles forment un senseur de tension grâce à leurs hélices S4, chargées positivement, qui montent dans la membrane quand elle se dépolarise et déclenchent ainsi un changement de conformation qui ouvre le pore ; la porte, située du côté cytosolique, a la forme d'un iris qui s'ouvre ou se ferme sous l'effet du mouvement simultané des hélices α qui le compose. Quand il est ouvert, les ions s'écoulent en suivant leur gradient électrochimique. Notez que les segments terminaux à chaque extrémité ont été raccourcis pour ne pas surcharger la figure. (Figure d'après Long 2005 ; voir aussi Hille 2001, chap. 3)

Les canaux Na_V, eux, sont formés chacun d'une seule sous-unité α, qui contient encore une fois toute la fonctionnalité, et de deux sous-unités supplémentaires, $β_1$ et $β_2$. Contrairement aux canaux K_V, la variété des canaux Na_V est nettement moins manifeste : la sous-unité α présente seulement une douzaine d'isoformes, numérotés de Na_V1.1 à Na_V3.1 (Ranjan 2013). De plus, les variations cinétiques entre ces isoformes sont nettement moins importantes : alors que la constante de temps de l'activation d'un canal K_V peut varier d'un facteur 1000 selon l'isoforme, elle ne varie que d'un facteur 2 pour les Na_V (Hille 2001, chap. 3). Dans les noeuds de Ranvier des mammifères, on trouve exclusivement l'isoforme Na_V1.6.

Puisqu'ils ne sont pas des tétramères, on pourrait s'attendre à ce que la structure tridimensionnelle des canaux Na_V diffère fortement de celles des canaux K_V, mais *il n'en est rien*. En effet, comme le montre la **figure 1.C2.2**, l'unique sous-unité α des canaux Na_V comporte *quatre répétitions internes* dont chacune est fortement homologue à la sous-unité α d'un canal K_V. Le canal comporte donc quatre senseurs de tension, notamment. Une telle structure a pu évoluer par l'insertion accidentelle, dans un même gène, de quatre copies initialement identiques d'un même segment d'ADN. Un canal Na_V est donc un **pseudo-tétramère**, qui comporte des segments fonctionnels analogues à ceux déjà décrits à la figure 1.C2.1. Une fonctionnalité supplémentaire, l'inactivation, est assurée par un segment situé entre deux des quatre répétitions. Ce segment comporte la séquence de trois acides aminés IFM qui peut entrer dans le pore ouvert et s'y lier, le bloquant par le fait même.

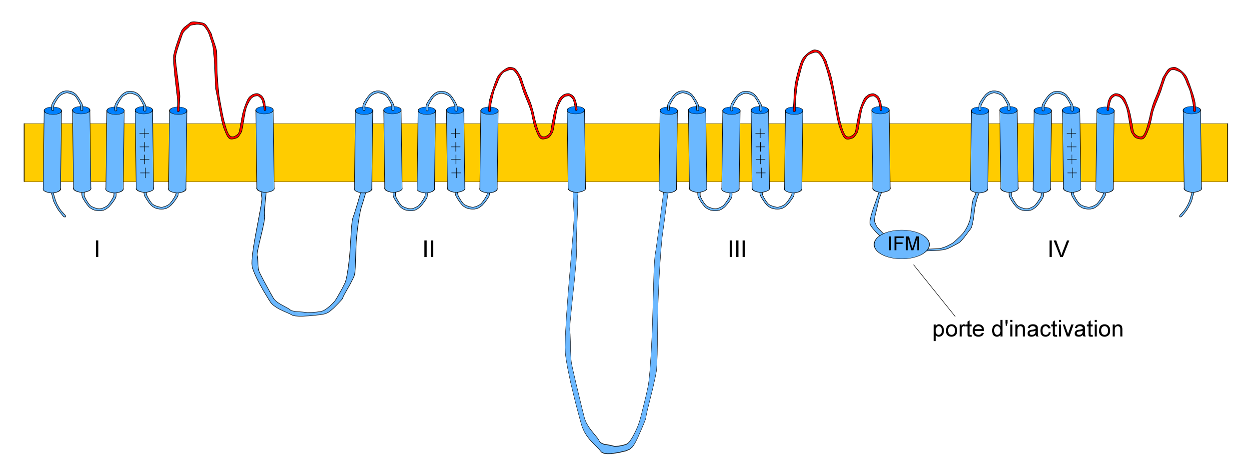


Figure 1.C2.2 La sous-unité α d'un canal Na_V comporte quatre répétitions internes, numérotés de I à IV, de segments homologues à une des sous-unités α d'un canal K_V. Entre les domaines III et IV se trouve un court segment qui est capable de s'insérer dans le pore ouvert et de s'y lier de façon réversible, bloquant ainsi le passage des ions Na^+. Ce segment est donc la porte d'inactivation. Comme à la figure 1.C2.1, les quatre segments en rouge forment le filtre de sélectivité et les quatre hélices identifiées avec ++++ sont les senseurs de tension. (Figure d'après Yu 2003)

Précisions sur le filtre de sélectivité. Au minimum, un filtre de sélectivité agit en rétrécissant l'ouverture du pore du canal, ce qui évite aux grosses molécules de passer et ne donne accès qu'aux petits ions. De plus, le filtre est typiquement fait d'une portion de polypeptide chargée ou polaire, ce qui repousse les ions dont la charge a le signe opposé à celle des ions pouvant traverser. Toutefois, ces deux mécanismes ne sont pas suffisants pour expliquer la grande qualité de la sélection. En particulier, dans des conditions comparables,

les canaux K_V ont une conductance aux 50 fois plus élevée aux ions K^+ qu'aux ions Na^+, *bien que l'ion Na^+ soit de même signe et de plus petite taille*.

Pour mieux comprendre le fonctionnement du filtre de sélectivité, on peut examiner un canal à potassium plus simple, qui n'est pas tensiodépendant. Ce canal, appelé KcsA, est tiré d'une bactérie et comporte seulement deux hélices transmembranaires, homologues aux hélices S5 et S6 des canaux K_V. C'est le premier canal qui a été cristallisé et dont la structure tertiaire a donc pu être élucidée par cristallographie aux rayons X (Doyle 1998). Comme le montre la **figure 1.C2.3**, le filtre de sélectivité (en jaune) est tellement étroit que les ions K^+ (illustrés en vert) doivent se débarrasser des molécules d'eau qui les hydratent afin de pouvoir passer. Cela suppose un coût énergétique, que le filtre de sélectivité compense en présentant des atomes d'oxygène qui jouent le même rôle que ceux contenus dans les molécules d'eau. Un ion plus petit que K^+ ne peut traverser efficacement car il n'est pas assez large pour interagir simultanément avec les atomes d'oxygène situés de part et d'autre. Son coût énergétique pour traverser est donc plus grand.

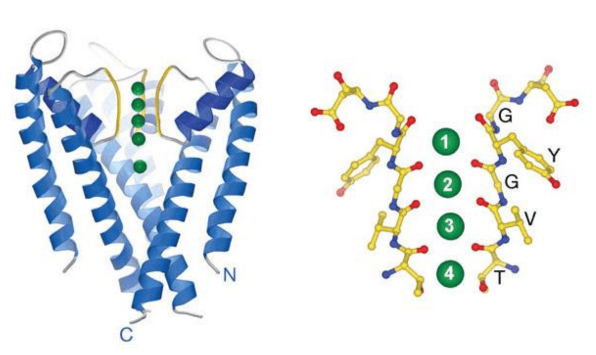


Figure 1.C2.3 Les atomes d'oxygène (en rouge) du filtre de sélectivité (en jaune) sont situés à une distance approprié pour interagir préférentiellement avec un ion d'une taille précise. Les ions plus petits ne peuvent donc traverser que moyennant un coût énergétique élevé entraîné par la perte des molécules d'eau qui les hydratent. (Figure : Morais-Cabral 2001)

Quant aux canaux Na_V, ils peuvent eux aussi laisser passer une faible proportion d'ions K^+. La taille de leur pore n'est donc pas suffisante pour expliquer que les ions K^+ les traversent relativement peu comparativement aux Na^+. Une étude récente (Xia 2013) a élucidé le rôle de trois acides aminés particuliers dont les chaînes latérales favorisent énergétiquement le passage des Na^+ ; ils jouent donc un rôle analogue aux atomes d'oxygène de la figure 1.C1.5.

1.C2.2 Une interprétation moléculaire du modèle HH

Lors de la formulation du modèle qui porte leur nom, Hodgkin et Huxley ignoraient tout de l'existence de canaux tensiodépendants. Leur hypothèse de travail était que les ions traversaient grâce à une sorte de navette ou de pompe (Hodgkin 1949). Le débit ionique élevé, le fait que les ions traversent toujours passivement et enfin les structures cristallographiques ont permis d'établir que les ions traversent la membrane en empruntant des canaux qui comportent des pores transmembranaires gardés par une porte (Hille 2001, chap 1-3). Cette séquence historique soulève une question évidente : quels liens peut-on faire entre les équations du modèle HH et le fonctionnement des canaux tensiodépendants ? Nous allons répondre à cette question en discutant quelques aspects.

Tout d'abord, rappelons que le modèle HH prévoit que la conductance du potassium est proportionnelle à n^4 et celle du sodium, à m^3h. Ces deux expressions peuvent être interprétées comme un simple ajustement de courbe à une séries de données ; en ce sens, le modèle HH serait un système d'équations empiriques qui permet de prédire les mesures sans faire d'hypothèse sur les mécanismes moléculaires. Mais Hodgkin et Huxley, qui

avaient en tête un faux mécanisme, baptisaient «particules d'activation» les variables *m* et *n*. Peut-on aujourd'hui formuler une interprétation physique correcte de ces variables ?

Dans le cas du canal K_V, le lien est évident : il y a quatre sous-unités α qui comportent chacune un senseur de tension. Or, les quatre senseur de tension doivent être dans leur position favorable pour que les ions K^+ puissent traverser. En conséquence, si on considère que chaque senseur de tension a une probabilité *n* de se trouver dans la position favorable, la probabilité d'ouverture d'un canal individuel est donc n^4. Selon cette interprétation, chaque «particule d'activation» du modèle HH correspond au senseur de tension d'une des quatre sous-unités du canal K_V. Évidemment, cette correspondance a plus l'allure d'une coïncidence que celle d'une prémonition ; d'ailleurs, Hodgkin et Huxley affirmaient eux-mêmes que l'ajustement des courbes aux données expérimentales pouvait être encore meilleur si on utilisait un exposant plus élevé que 4 (Hodgkin 1952e). De plus, l'interprétation que nous venons de faire suppose que les quatre sous-unités du tétramère sont parfaitement indépendantes les unes des autres, ce qui n'est pas le cas en réalité (voir par exemple Banerjee 2013).

La correspondance entre le facteur m^3 et le fonctionnement d'un canal Na_V est beaucoup moins évidente, puisqu'il y a encore quatre senseurs de tension (voir notamment la figure 1.C2.2). La différence d'exposant peut être une conséquence d'une coopérativité (interaction allostérique) plus grande que dans les canaux K_V. Néanmoins, la présence d'un exposant, quel qu'il soit, révèle quand même que plusieurs étapes doivent se produire pour que le canal s'ouvre. Rappelons que Hodgkin et Huxley avaient prédit cette séquence en raison de la présence d'un point d'inflexion dans les courbes de $J_{Na}(t)$ et de $J_K(t)$.

La question suivante qui se pose à propos de l'interprétation moléculaire du modèle HH concerne les courbes de conductance comme celles de la figure 1.B3.2 : si on suppose que m^3h = 0,5 ou que n^4 = 0,5, cela signifie-t-il que les canaux sont à moitié ouverts ou que la moitié des canaux sont ouverts ? La technique du patch clamp permet de mesurer le courant qui traverse un canal individuel (ou un petit nombre de canaux) et favorise clairement le comportement «tout ou rien» caractéristique de la seconde option. En d'autres termes, un canal individuel est toujours soit entièrement ouvert, soit entièrement fermé. Nécessairement, la signification de m^3h ou de n^4 est donc une *moyenne sur une population de canaux*.

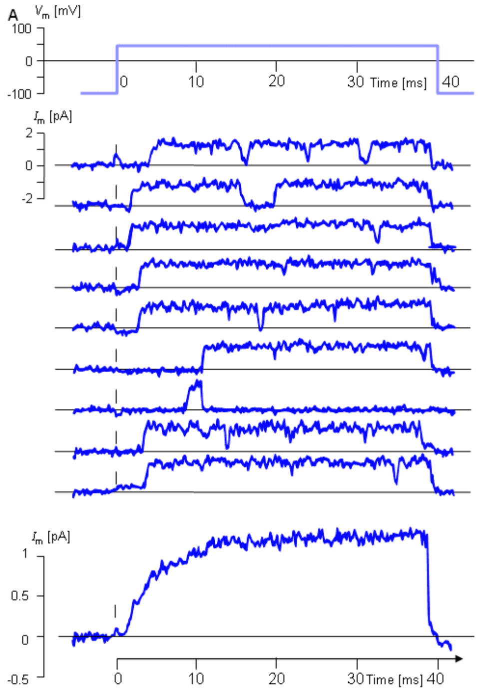


Figure 1.C2.4 Le comportement d'un canal est stochastique : répéter un même voltage clamp (haut) produit chaque fois une réaction différente, mesurée grâce à un patch clamp (centre). La moyenne sur des dizaines de répétitions (bas) donne la courbe continue de la figure 1.B3.2. Le cas illustré est un canal K_V. (Figure : Hille 2001, chap. 3)

La population de canaux étant soumise au même stimulus (potentiel de membrane), il peut paraître surprenant que certains canaux soient ouverts alors que d'autres soient fermés : pourquoi le même stimulus produit-il des résultats différents ? La **figure 1.C2.4** répond à cette question en révélant que le

comportement d'un canal est stochastique. En effet, neuf répétitions du même stimulus produisent neuf réponses différentes chez un même canal, qui fluctue entre les états ouvert et fermé. Ce comportement stochastique s'explique par le fait que l'énergie requise pour déplacer les senseurs de tension est du même ordre de grandeur que l'énergie thermique des molécules environnantes. Malgré tout, la moyenne de 40 courbes (bas de la figure 1.C2.4) donne la courbe continue mesurée expérimentalement sur la population de canaux (voir la figure 1.B3.2), ce qui montre bien que le changement de potentiel de membrane agit sur la *probabilité* d'ouverture.

Dans certaines des simulations numériques dont les résultats font l'objet de l'article présenté au chapitre 4, nous avons tenu compte des fluctuations causées par le comportement stochastique des canaux en ajoutant un courant de bruit.

Charge du senseur de tension. Enfin, on peut relier la probabilité d'ouverture d'un canal avec des éléments de sa structure. Il suffit d'appliquer la mécanique statistique à une population de canaux K_V ou Na_V, suivant un raisonnement initialement présenté dans Hodgkin 1952e, pour lequel nous donnons une version plus moderne (voir aussi Nelson 2008, chap. 12).

Tout d'abord, le ratio de canaux ouverts et fermés, à l'équilibre, est donné par :

$$\frac{P_{\text{ouvert}}}{P_{\text{fermé}}} = e^{-\Delta G / k_B T} \qquad \text{(équation 1.C2.1)}$$

où $\Delta G \approx \Delta F$ est la différence d'énergie libre du système entre la population d'états ouverts et celle d'états fermés. Puisque $P_{\text{ouvert}} + P_{\text{fermé}} = 1$, on obtient de façon équivalente que :

$$P_{\text{ouvert}} = \frac{1}{1 + e^{+\Delta G / k_B T}} \qquad \text{(équation 1.C2.2)}$$

Une connaissance précise de ΔG impliquerait de faire des hypothèses détaillées sur la structure du canal. Ici, il nous suffit de faire l'hypothèse qu'une partie de ΔG est due au mouvement de la charge q portée par le senseur de tension dans le champ électrique $E = V/d$ de la membrane (d'épaisseur d) et que le reste de ΔG est indépendant de ce champ. On fait donc l'hypothèse que l'ouverture s'accompagne d'un changement d'énergie libre

$$\Delta G = \Delta G_0 - q\frac{V}{d}L \qquad \text{(équation 1.C2.3)}$$

où ΔG_0 où L est la distance parcourue perpendiculairement à la membrane par la charge q. En substituant l'équation 1.C2.3 dans l'équation 1.C2.2, on obtient :

$$P_{\text{ouvert}} = \frac{1}{1 + Ae^{-qVL / dk_B T}} \qquad \text{(équation 1.C2.4)}$$

où A = exp(ΔG_0). Évidemment, le modèle que nous venons de présenter est simpliste, en particulier car il néglige le fait que la charge q se déplace en plusieurs étapes. Néanmoins, on remarque que l'équation 1.C2.4 a une forme sigmoïde et que la valeur de $q(L/d)$ peut être extraite de la pente maximale de cette dernière, permettant de fixer une borne inférieure à la valeur de q. Ce qui nous intéresse encore davantage est qu'une modification de ΔG_0 équivaut à une translation horizontale de V, sans modification de la forme de la courbe $P_{ouvert}(V)$. Une telle translation correspond au décalage cinétique que nous allons introduire au chapitre 3 et qui est le mécanisme au coeur de l'hypothèse générale guidant les travaux de notre groupe de recherche.

1.C2.3 L'inactivation des Na_V diffère des hypothèses du modèle HH

En un demi-siècle de mesures cinétiques, quelques résultats ont contredit les hypothèses du modèle HH, sans affecter sa validité descriptive. Par exemple, plusieurs isoformes des canaux K_V sont capables eux aussi de s'inactiver, mais le délai d'inactivation est tellement long qu'il n'a pas été observé par Hodgkin et Huxley. Nous allons ici insister sur deux aspects qui sont pertinents pour aborder le chapitre 3 : d'abord, nous discuterons la présence d'un **couplage cinétique** entre l'activation et l'inactivation des canaux Na_V (alors que le modèle HH considère ces deux processus comme indépendants et tensiodépendants). Ensuite, nous exposerons que les canaux Na_V sont capables d'occuper une configuration où ils deviennent des **canaux persistants**, c'est-à-dire d'augmenter de beaucoup le délai de leur inactivation.

L'inactivation est étroitement couplée à l'activation. Nous débutons d'abord par une critique de l'hypothèse HH voulant que l'inactivation soit indépendante de l'activation. Notre présentation suivra la séquence de celle faite par Hille 2001 (chap. 19).

La figure 1.C2.2 montre que l'activation des canaux Na_V procède par un mécanisme analogue à celle des canaux K_V, le mouvement des hélices S4. Par contre, leur inactivation dépend d'une portion de polypeptide que les Na_V n'ont pas en commun avec les canaux K_V et qui peut boucher le pore. Les portes d'activation et d'inactivation des canaux Na_V sont donc bel et bien *distinguables*, comme le suppose le modèle HH. Cependant, ce modèle fait aussi l'hypothèse que ces deux portes n'ont aucun lien entre elles et dépendent chacune directement de V. C'est là que le bât blesse.

Aujourd'hui, on considère que l'inactivation doit attendre l'activation pour se produire et que la désactivation doit largement attendre la récupération de l'inactivation pour se produire. Selon l'isoforme, l'inactivation d'un canal ouvert peut être un processus entièrement indépendant de V ; il ne semble alors dépendre de V que parce qu'il attend l'ouverture du canal pour se produire et que cette dernière, elle, dépend de V. Dans d'autres cas, l'inactivation dépend aussi de V, bien qu'elle soit surtout couplée à l'activation.

Un premier signe de ce lien entre l'activation et l'inactivation a été obtenu en mesurant le courant dû au mouvement de la charge des senseurs de tension (Armstrong 1977). Pour faire une telle mesure, on effectue un premier voltage clamp qui fait passer le potentiel de membrane de V_0 à une valeur dépolarisée, suivi d'un second saut provoquant un retour à V_0. Quand l'activation et la désactivation se suivent dans un très faible intervalle de temps, on mesure que la charge déplacée vers l'extérieur de la membrane pendant l'activation est

égale à la charge déplacée vers l'intérieur pendant la désactivation. Par contre, quand l'activation dure suffisamment longtemps pour que de l'inactivation puisse se produire, moins de charge se déplace lors de la désactivation ; en d'autres termes, cette dernière semble partiellement empêchée. La proportion de charge immobilisée croît avec la durée d'activation et le fait avec une constante de temps identique à la variable τ_h du modèle HH. En somme, *l'inactivation immobilise une partie de la charge des senseurs de tension responsables de l'activation et de la désactivation*.

Cette découverte de Armstrong et Bezanilla montre que la désactivation ne peut pas (ou difficilement) se produire normalement sans que la récupération de l'inactivation ait d'abord eu lieu. En conclusion de leur article, ces auteurs construisent un modèle montrant que la dépendance $h_\infty(V)$ présentée dans le modèle HH n'est qu'apparence, les mesures de Hodgkin et Huxley pouvant être expliquées par une inactivation rapide et indépendante de V, seule l'activation étant réellement dépendante de V d'une façon intrinsèque. Ce modèle semble fonctionner parfaitement pour certains isoformes Na_V, alors que d'autres ont une inactivation qui, bien que fortement dépendante de l'activation, dépend *aussi* de V. Plusieurs variantes du modèle de Armstrong et Bezanilla sont aujourd'hui en usage (Hille 2001). Certaines permettent, ou non, à l'inactivation de se produire sur un canal qui n'est pas préalablement activé. Tous favorisent l'inactivation des canaux qui sont d'abord activés ; on dit alors qu'ils sont des **modèles couplés**.

Ces idées sont aussi corroborées par notre connaissance actuelle de la structure des canaux Na_V : comme le montre la figure 1.C2.2, les charges portées par les hélices S4 expliquent facilement que leur mouvement, qui entraîne l'activation, dépende de V. Par contre, la boucle du polypeptide située entre les domaines III et IV, qui est responsable de l'inactivation, ne porte aucune charge nette et ne peut donc pas dépendre directement de V comme le supposait le modèle HH.

Les courants persistants. Qu'il soit activé, désactivé ou inactivé, tout canal tensiodépendant peut en tout temps commuter entre un mode «actif», où l'activation et l'inactivation sont rapides, et un mode «relaxé», où ces mêmes procédés deviennent très lents (Taddese 2002, Villalba-Galea 2008 ; voir aussi Morris 2012a). Cette commutation est indépendante du potentiel de membrane. En raison de la plus grande stabilité du mode relaxé, c'est probablement ce dernier qui est observé dans les structures cristallines que nous avons présentées.

Lors d'un saut de voltage clamp, les canaux en mode relaxé ne s'activent pas comme ceux en mode rapide, ce qui ne change rien sur les courbes $J_{Na}(t)$. En revanche, les canaux activés (ouverts) qui sont en mode relaxés *ne s'inactivent que très lentement*, ce qui laisse cette fois une trace sur les courbes $J_{Na}(t)$ obtenues par voltage clamp. Ces dernières ne retournent pas parfaitement à zéro, mais tendent plutôt vers une valeur non nulle de J_{Na} qu'on appelle **courant persistant**. (On rencontre aussi les termes *non-inactivating* ou *slow-inactivating* dans la littérature.)

Il faut soulever que ce courant persistant ne doit pas être confondu avec le courant de fenêtre, qui est une autre composante de J_{Na} qui ne relaxe pas vers zéro (bien que le courant de fenêtre à $V = V_0$ soit infime dans des conditions normales, voir la figure

1.B3.11). En particulier, nous verrons au chapitre 3 que les dommages apportés à une membrane cellulaire qui contient des canaux Na_V a pour effet d'augmenter significativement le courant de fenêtre et de produire un influx durable de sodium. Pour éviter toute confusion, nous ne qualifierons jamais ce dernier de «persistant».

Ironiquement, Hodgkin et Huxley ont ignoré le phénomène du courant sodique persistant alors qu'il est particulièrement présent dans les membranes d'axones géants de calmar. En conséquence, leur modèle de J_{Na}, illustré à la figure 1.B3.8, où l'inactivation fait décroître le courant J_{Na} vers zéro, n'est pas adéquat si on veut tenir compte des courants persistants. Or, il a été démontré qu'en tenir compte est nécessaire pour comprendre certains phénomènes, notamment les neurones «pace-maker» qui déchargent à une fréquence de résonance fixe (Taddese & Bean 2002). Certains modèles numériques choisissent donc d'ajouter un «terme persistant» au modèle HH (notamment Volman 2013, dont les travaux ont des points communs avec les nôtres), ce que nous ne ferons cependant pas dans nos travaux, puisque nous modélisons des neurones qui, s'ils sont sains, demeurent au repos en l'absence de stimulus. De plus, Morris 2012a démontre que le courant dû aux canaux en mode rapide domine largement en présence de dommage aux membranes.

En terminant, apportons une précision essentielle : bien que les hypothèses du modèle HH aient été partiellement contredites par les expériences que nous venons de revoir, ce modèle représente quand même correctement les données dans un neurone normal qui demeure au repos en l'absence de stimulus. Il peut donc être utilisé pour des simulations, ce que nous ferons d'ailleurs dans notre article de recherche (chapitre 4). La seule conséquence réelle des discordances avec le modèle HH que nous venons de présenter est que la courbe $h_\infty(V)$ tirée du modèle HH ne doit pas être interprétée comme un mécanisme physique réel.

1.C2.4 Quelques techniques expérimentales

Comme dans le cas des pompes Na/K, l'étude de la cinétique des canaux repose sur des dizaines d'expériences distinctes que nous n'allons pas revoir ici. Par contre, du vocabulaire de base sur ces techniques peut être requis au lecteur qui prévoit entreprendre une revue de littérature pour la première fois. Nous présentons donc à nouveau une liste de quelques termes pertinents, en plus de ceux déjà utilisés ci-dessus, qui ne prétend pas être exhaustive :

- Comme dans le cas des pompes Na/K, on peut étudier les canaux à l'aide d'inhibiteurs qui les bloquent de façon réversibles. Le **tétraéthylammonium (TEA)** inhibe bien des isoformes des canaux K_V alors que la **tétrodotoxine (TTX)** fait de même pour les Na_V. Ainsi, quand un article rapporte qu'un courant ou une conductance est «*TTX-sensitive*», cela révèle que les canaux Na_V sont impliqués d'une façon ou d'une autre.

- Les techniques de marquage présentées dans le contexte des pompes Na/K s'appliquent aussi dans le cas des canaux. Il en va de même du clivage dû à un enzyme.

- La nomenclature des canaux a évolué et certains utilisent encore des noms historiques. Par exemple, les canaux de la famille K_V1 sont encore appelés ***shaker*** *channels* (une référence aux tremblements des drosophiles où elles ont été identifiées).

1.C2.5 L'évolution et les fonctions des canaux

Comme dans le cas des pompes Na/K, l'origine des canaux peut raisonnablement être attribuée à des procédés d'ajustements osmotiques destinés à éviter l'éclatement des cellules. Bien que tous les canaux font partie de familles génétiques dont l'origine peut être retracée jusqu'aux bactéries, l'évolution a accordé des rôles à ces canaux surtout dans le règne animal. Ces rôles ne se limitent pas au fonctionnement de l'influx nerveux.

Un rôle fondamental joué par les canaux est la gestion des ions Ca^{++}, un ion qui sert souvent de messager. Dans les cellules musculaires, la libération de calcium dans le cytoplasme déclenche le mécanisme de contraction ; dans les boutons terminaux des neurones, cette même libération déclenche la libération de neurotransmetteurs hors de la cellule ; sous la membrane plasmique, la présence localisée de ces mêmes ions signale à des enzymes qu'il faut détruire le cytosquelette afin de permettre un remodelage de la forme de la cellule. Et ce ne sont que quelques exemples. Dans tous les cas, la libération de calcium dans le cytoplasme est permise par l'ouverture de canaux Ca_V. Apparemment, l'évolution de tous les canaux s'est produite en coordination avec celle des mécanismes activés par la présence d'ions Ca^{++}. Ils jouent donc aujourd'hui un rôle clé dans de très nombreux processus cellulaires.

Guide de lecture 1.C

Comme dans le cas des deux sections précédentes, nous terminons avec quelques conseils de lecture pour le néophyte. Cette fois, nous nous limiterons à deux manuels : tout d'abord, Hille 2001 est une référence incontournable et mondialement reconnue au sujet des canaux ioniques. Il couvre autant les aspects historiques qu'il survole les techniques expérimentales. De même, Laüger 1991 est une référence de grande qualité, bien que vieillissante, au sujet des pompes. Chacun de ces deux manuels est écrit par un biophysicien et vise un public multidisciplinaire.

Certes, de nombreux articles ont été cités dans cette section 1.C et ils ne sont pas dépourvus de mérite. Par contre, leur lecture ne saurait être entreprise sans le portrait plus large obtenu en lisant Hille ou Laüger. Malheureusement, l'âge de ces deux manuels requiert à l'occasion de vérifier l'état plus récent des connaissances. À cette fin, nous recommandons notamment les articles issus du groupe de David C. Gadsby pour les pompes et ceux issus du groupe de William A. Catterall pour les canaux tensiodépendants (ceux que nous avons cité, tout comme les autres). Tous deux sont des chefs de file dans leurs sujets respectifs.

1.D) Survol des notions d'encodage neuronal

Les méthodes expérimentales présentées à la figure 1.B1.3 peuvent être adaptées pour enregistrer *in vivo* la réaction d'un neurone à un stimulus réel : on n'utilise alors pas d'électrode intracellulaires, mais une électrode extracellulaire qui ne détecte que les échanges ioniques correspondant à un potentiel d'action dans un axone situé à proximité. Avec de telles techniques, on s'aperçoit que tous les neurones, qu'ils fassent partie du système nerveux périphérique ou du système nerveux central, encodent de l'information sous la forme d'un train de potentiels d'actions, souvent indifféremment appelé **train d'impulsions**. Chaque potentiel d'action étant considéré comme identique aux autres, un train d'impulsion peut se réduire à une liste de temps, ceux où surviennent les maximums de chacun des potentiels d'action.

Pour «traduire» un stimulus, qui dépend ou non du temps, en un train d'impulsions, le neurone utilise un **schème d'encodage**. Selon qu'il s'agit d'un neurone sensitif, moteur ou selon la partie du système nerveux central à laquelle il appartient, le schème d'encodage utilisé n'est pas le même et plusieurs schèmes peuvent être utilisés simultanément (Dayan 2001, chap. 1-2).

Bien que l'encodage neuronal ne soit pas un des sujets centraux de nos travaux de recherche, il en occupe la périphérie : les travaux que nous présenterons dans l'article du chapitre 4 montrerons que la présence d'une zone endommagée le long d'un axone a pour effet de *modifier le train d'impulsion* qui atteint la fin de l'axone, par exemple en retardant des potentiels d'action ou en insérant des potentiels d'action supplémentaires. Nos travaux ne sauraient décrire de telles modifications sans mettre en relief leurs conséquences, ce qui nécessite d'interpréter ces modifications à la lumière de différents schèmes d'encodage. Nous allons donc aborder brièvement les principaux schèmes en question. Il faut aussi souligner que la question de l'importance relative des différents schèmes est toujours un sujet de rude controverse en neuroscience.

1.D.1 L'encodage fréquentiel

L'expérience montre que les fibres musculaires se contractent d'autant plus fortement que le neurone moteur qui les stimule transmet un grand nombre de potentiels d'action par unité de temps. De façon similaire, on sait depuis longtemps (Adrian 1926) que la majorité des systèmes sensitifs ont une fréquence de décharge d'autant plus élevée que le stimulus perçu est intense (la relation exacte étant non linéaire). Dans les deux cas, les cellules postsynaptiques ne sont pas sensibles aux temps exacts auxquels surviennent les potentiels d'action, mais seulement au nombre total reçu pendant la durée de l'expérience.

Des résultats similaires sont aussi obtenus pour des interneurones qui font partie du cortex cervical : dans le cortex auditif, certains neurones émettent des potentiels d'action à une fréquence qui est maximale quand on utilise un stimulus auditif qui contient un ton pur d'une certaine hauteur ; leur activité décroît quand la hauteur du son change. De même, certains neurones du cortex visuel répondent en déchargeant à une fréquence maximale quand un stimulus visuel particulier est utilisé, par exemple des bandes lumineuses parallèles d'une certaine largeur ou d'une certaine orientation ; leur activité décroît quand

la largeur ou l'orientation du stimulus visuel change (Dayan 2001, chap. 1).

Dans de telles expériences, on évalue typiquement un *taux de décharge moyen* r_{moy} en comptant le nombre total d'impulsions et en divisant par la durée de l'exposition au stimulus, typiquement de l'ordre de 100 à 500 ms. Il va de soi que le stimulus doit demeurer constant pour toute cette période. Malgré tout, on observe que chaque neurone présente une variabilité : sa réponse à un même stimulus n'est pas la même à chaque fois. On répète donc l'expérience un grand nombre de fois et on considère la moyenne des résultats.

Quand le stimulus varie en fonction du temps, le taux de décharge des neurones stimulés varie aussi en fonction du temps. Par conséquent, utiliser le taux de décharge moyen n'est pas pertinent et on utilise plutôt un *taux de décharge dépendant du temps*, $r(t)$. Il existe plusieurs façons de mesurer ce taux, la plus simple étant de séparer la durée de l'expérience en intervalles de temps Δt puis de diviser, dans chaque intervalle, le nombre d'impulsions par Δt (Dayan 2001, chap. 1).

Les résultats de ces expériences suggèrent que les neurones encodent la majorité de l'information dans un **encodage fréquentiel** et ignorent complètement ou presque complètement le temps exact où survient chaque impulsion. L'approche classique est de considérer que c'est le cas de tous les neurones, une hypothèse qui a permis d'obtenir de nombreux résultats en théorie des réseaux neuronaux, ce qui montre sa relativement bonne validité. Dans la perspective de l'encodage fréquentiel, les conséquences les plus fâcheuses des modifications introduites par la zone endommagée d'un axone seraient les impulsions supplémentaires.

Notons que les neurones qui utilisent exclusivement l'encodage fréquentiel peuvent être considérées comme inefficaces : ils gaspillent une partie importante de l'information que peut potentiellement contenir un train d'impulsion. Par contre, cette perte n'est pas sans un avantage : en ignorant toutes les informations autres que le nombre d'impulsions, ces neurones ignorent aussi l'effet de la variabilité des neurones.

1.D.2 L'encodage temporel

Malgré l'importance indubitable de l'encodage fréquentiel, plusieurs expériences montrent que des neurones interprètent aussi certaines des informations ignorées par l'approche de l'encodage fréquentiel (Stein 2005 ; Butts 2007). En outre, les neurones peuvent détecter avec une résolution *de l'ordre du milliseconde* des événements comme la synchronisation de potentiels d'action arrivant de deux neurones présynaptiques, le délai qui sépare le début du stimulus de l'émission du premier potentiel d'action ou l'intervalle entre des impulsions consécutives, voire reconnaître un pattern spécifique de potentiels d'action. On dit que ces neurones capables d'interpréter des informations ignorées dans le code fréquentiel utilisent des **encodages temporels**. Dans un tel encodage, un axone endommagé qui n'ajouterait aucun potentiel d'action supplémentaire mais décalerait dans le temps ceux qui sont propagés aurait des conséquences non moins fâcheuses que si des impulsions avaient été ajoutées. Notons que le décalage intégral d'un train d'impulsion par un délai constant, même s'il ne change pas du tout le taux de décharge, peut avoir un effet sur la détection de synchronisations entre le neurone endommagé et un autre neurone.

1.D.3 L'encodage de population

On pourrait argumenter que l'obtention de $r(t)$ représente mal la réaction d'un neurone, notamment parce que faire la moyenne sur un grand nombre d'essais peut introduire des variations temporelles plus rapides que celles que peut produire un neurone individuel. Par contre, la détermination de $r(t)$ gagne un sens physique si on change d'interprétation : au lieu de la réponse d'un même neurone à plusieurs essais, on suppose qu'un grand nombre de neurones sont simultanément exposés au même stimulus et que chacun produit *indépendamment*[23] *des autres* une réponse qui ne diffère qu'en raison du bruit introduit par la variabilité des neurones. La fonction $r(t)$ représente alors la réponse moyenne de la population neuronale et on dit que le groupe de neurones en question encode l'information en utilisant un **encodage de population**.

Le point faible de cet encodage est que l'information ne peut être retrouvée qu'en interprétant l'activité de toute une population de neurones. En revanche, cet encodage présente deux avantages importants : premièrement, tous les effets de la variabilité des neurones individuels sont éliminés quand on considère la moyenne dans une population. C'est sans doute pourquoi un encodage de population est utilisé pour enregistrer des informations continues, comme la fréquence sonore, avec une précision qui est nettement supérieure à ce que permettrait un neurone individuel, considérant la variabilité de ce dernier. Deuxième avantage : l'encodage de population présente la possibilité d'une réponse rapide, alors que la réponse d'un neurone individuel est limitée par la durée de l'intervalle entre ses impulsions consécutives.

Dans le contexte de nos travaux, l'effet que le dommage neuronal aurait sur un code de population dépendrait de la quantité de neurones qui sont endommagés dans la population et de la gravité des dommages. Si une minorité de la population est touchée, l'usage d'un code de population aurait pour effet d'atténuer les effets du dommage. En revanche, si tous les neurones sont endommagés en des endroits comparables le long de leur axone, comme ça serait le cas si un nerf était touché (tous les axones qu'il contient seraient endommagés presque au même point le long du nerf), alors les modifications affectant le code de population seraient sans doute comparables à celles que subiraient les trains d'impulsions transmis par les neurones individuels.

En terminant, soulignons que, dans une population de neurones, on rencontre fréquemment des individus qui déchargent de façon synchronisées ou encore des oscillations dans les taux de décharge des neurones de la population. Si l'interprétation du code repose sur la détection de coïncidences, il est donc possible que l'impact des modifications causées par un axone endommagé soit plus important.

1.D.4 Application à nos travaux de recherche

Le neurone qui est représenté dans notre modèle numérique est générique : moyennant des modifications d'échelle, les résultats qu'il a produit pourraient s'appliquer tant aux neurones sensitifs qu'aux neurones moteurs ou aux interneurones. Il n'y a donc pas une combinaison unique de schèmes d'encodage qui soit appropriée. Pour cette raison, nous

---

[23] Selon Dayan 2001, cette indépendance de la réaction des neurones d'une population demeure cependant controversée.

avons choisi de caractériser les modifications induites par la zone endommagée d'un axone en tenant compte *à la fois* des ajouts et des décalages temporels d'impulsions : comme nous le verrons lors de la présentation de nos résultats, l'altération des trains d'impulsions a été mesurée avec une métrique, celle de Victor et Purpura (1996), qui tient compte à la fois de l'ajout d'impulsions supplémentaires et des différences de chronométrage de chaque impulsion.

Ce survol de l'encodage neuronal met maintenant fin à notre chapitre adressé au débutant dans ce domaine de recherche. Le lecteur dispose maintenant de tout le bagage requis pour comprendre la construction de notre modèle numérique, présentée au chapitre 3 avec notre revue de littérature, ou pour passer directement à l'article de recherche, présenté au chapitre 4. S'il en ressent le besoin, le lecteur débutant peut aussi lire le chapitre 2, un article pédagogique portant spécifiquement sur les erreurs conceptuelles fréquentes que rencontrent ceux qui abordent pour la première fois le modèle Hodgkin-Huxley.

Cette page est intentionnellement blanche.

Chapitre 2 : Article pédagogique

Présentation
Ce second chapitre fait suite au chapitre 1 en ce sens qu'il intéressera davantage le lecteur qui débute tout juste dans le domaine. Il est composé d'un article, rédigé en anglais, qui a été soumis en juillet 2013 (et resoumis avec révisions mineures en octobre 2013) à *American Journal of Physics* pour un numéro spécial prévu au printemps 2014 portant sur «l'intersection entre la physique et la biologie». Bien qu'il s'agisse d'une revue avec comité de lecture, *American Journal of Physics* a avant tout une vocation pédagogique.

L'objet de l'article est de confronter six conceptions erronées fréquemment développées par les étudiants qui apprennent le fonctionnement du potentiel d'action. Comme de ces erreurs conceptuelles peuvent aussi se manifester chez le lecteur qui aborde le modèle Hodgkin-Huxley pour la première fois, en faire une lecture est donc approprié pour celui-là. De plus, l'article entend remplacer les conceptions erronées par une vision plus physiquement réaliste à l'aide de deux projets numériques qui sont présentés. Bien qu'ils soient rudimentaires, il ne manqueront pas d'intéresser le lecteur qui débute dans le domaine et prévoit entreprendre de la modélisation numérique.

Notons que la première partie de l'article reprend d'une façon succincte une partie du contenu de la section 1.B du chapitre précédent.

Cette page est intentionnellement blanche.

Two computational models disprove common misconceptions about the physics of action potentials

Mathieu Lachance
Département de physique, Cégep de l'Outaouais, Gatineau J8T 7J4, Québec
and Institut de physique Ottawa-Carleton, Université d'Ottawa, Ottawa K1N 6N5, Canada

Action potentials (APs) are nonlinear electrical phenomena involving the propagation of a wave of excitation along axons, followed by a refractory tail. Introductory biology material induces, often explicitly, three conceptual mistakes about the physics of APs: A) recovery of the membrane potential from the refractory phase of the AP is misattributed to Na/K pumps, potassium currents or other inaccurate causes; B) currents involved during an AP are seen as massive, all or most of Na^+ ions rushing in the cell during the rising phase of each AP; C) intracellular and extracellular compartments are seen as charged in most of their volume. This article serves two purposes: 1) provide a corrected view of the mechanism using both theory and numerical simulations and 2) suggest two computational projects, of undergraduate difficulty level, that could be used as pedagogical tools in computational physics or biophysics courses.

Keys words: common misconceptions, action potential, Hodgkin-Huxley model, advection-diffusion equations.

I. INTRODUCTION

An important component of cégep or freshman year undergraduate training in biology is the description of *action potentials* (APs, also called *nerve impulses*) that propagate along *axons* (the output projections of neurons). Yet, computational models giving a quantitatively accurate description of APs or of electrochemical diffusion through the cell membrane are deemed too mathematical to be taught in introductory biology textbooks or in physics for life sciences textbooks. Rather, the simplified, qualitative, presentation found in those textbooks induces important misconceptions (MCs), both by explicitly teaching mistakes or by being silent about some key aspects of the phenomena.

This article lists three common MCs (labeled A, B and C), the first one in multiple forms, and gives theoretical arguments ruling them out (part III). It also suggests two computational projects designed to provide a comprehension of APs free of those MCs (parts IV, V). The first project uses the Hodgkin-Huxley (HH) model[1] to explore the time course and relative importance of several dynamic variables during an AP, while the second project is a novel version of existing models, designed to be as simple as possible, used to visualize the composition and size of the Debye screening sheets that appear on both sides of an axon membrane. Projects consider unmyelinated (squid) axons and space-clamped APs but the codes, made available as online supplements, could be easily extended.

Results from these projects were presented to 18-year old students taking mandatory introductory biology and physics at the *Cégep de l'Outaouais* (equivalent to first year undergraduate) and produced a noticeable reduction of the incidence of the three MCs. These projects could be given as homework problems to undergraduate students, either in a course about ordinary differential equations, numerical methods in physics, physics for life sciences, or other. They could also serve the same purpose in an more advanced biophysics course, although students already familiar with mathematical modeling of APs are more likely not to show all MCs.

II. BIOPHYSICAL BACKGROUND

We begin by introducing important biophysical concepts, covered in many classical textbooks[2]. Readers already familiar with the HH model and with membrane proteins can browse through this section quickly.

Rest potential. As in all animal cells, a potential difference is maintained across the membrane of neurons. Let V denote the inside potential relative to the extracellular medium's (*ie*. $V \equiv V_{int} - V_{ext}$). In unstimulated neurons, V remains at the *rest potential* $V_{rest} \approx -65$ mV, a voltage mostly maintained by the action of the "Na/K pump", a protein disseminated in cell membranes, that spends energy to export 3 Na^+ ions and import 2 K^+ ions per cycle. To a physicist, the resting membrane can therefore

be seen as a charged parallel-plate capacitor, showing a local accumulation of net charge within a Debye screening length on both sides of the membrane. Since the membrane is $L \approx 4.5$ nm thick, a strong electric field V_{rest}/L exists inside it and exerts forces on embedded proteins.

Voltage-gated channels. Axons don't always stay in their rest state. What renders their membrane capable of firing APs are two proteins, the Na^+ and K^+ voltage-gated channels (VGCs), that selectively allow Na^+ and K^+ ions, respectively, to cross the membrane, thus charging or discharging its capacitance. These VGCs are strongly influenced by the membrane electric field: when V is increased by just a few millivolts, their 3D conformation (shape) can switch from an deactivated (closed) to an activated (open) state. When in the later, each VGC forms a transmembrane aqueous pore which's radius and affinity allow a single ion species to permeate. Although both VGCs activate when V is increased, the Na^+ VGCs react 5-20 times faster than the K^+ VGCs, a key point in AP dynamics.

In addition to their activated and deactivated states, Na^+ VGCs can also be *inactivated* or not: when they activate, the opening of the pore exposes a binding site, to which another part of the macromolecule quickly attaches, inactivating (blocking) the pore. This obstacle remains attached until the channel deactivates again. In other words, K^+ VGCs only have one "door", while Na^+ VGCs have two, both needing to be open for ions to flow.

Stimulation to elicit APs. When the membrane potential V is perturbed by a stimulus, the reaction of the neuron is characterized by a *threshold*: when V stays below that threshold, it then relaxes to V_{rest} by showing a very overdamped oscillation that stays spatially localized in the cell; when V gets above the threshold, VGCs open and a nonlinear wave (AP) is fired; it propagates along the entire axon without amplitude loss. Fig. 1 shows that an AP consists of distinct phases, labeled 1-3: 1) V rises quickly; 2) V quickly drops and undershoots V_{rest}; 3) the axon *recovers* from the AP, with V slowing reaching V_{rest}.

In introductory biology material, phase 1 is associated with the fast activation of Na^+ VGCs causing Na^+ ions to "rush in", while phase 2 is associated with two slower reactions: the inactivation of Na^+ VGCs and the opening of K^+ VGCs, causing K^+ ions to "rush out". We call phase 3 the *recovery* period and define recovery as the mechanism causing V to return to V_{rest}, as introductory material often only discuss the

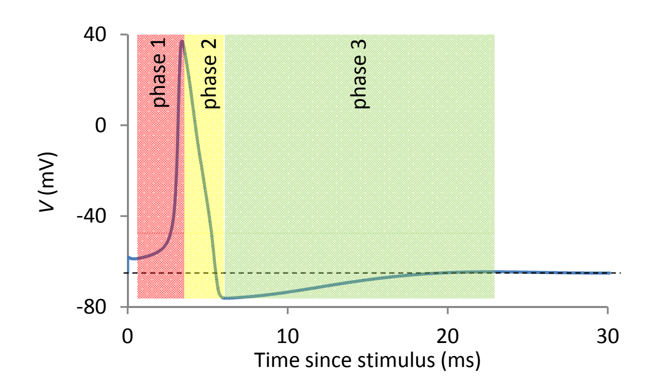


Fig. 1. Three phases of an AP. Dashed line indicates V_{rest}. Stimulus is a sudden voltage step occurring at $t = 0$.

refractory period, a short part of the recovery period during which the axon cannot respond to stimulation because Na^+ VGCs are still inactivated. The recovery mechanism is often unmentioned.

A simple yet quantitatively accurate description of an AP is given by the HH model, based on experiments published by Hodgkin and Huxley in 1952, that is still widely used in computational studies. This model, to be discussed here and in part IV, describes the states of the Na^+ and K^+ VGCs using time- and V-dependant transmembrane conductances g_{Na} and g_K.

Ohmic currents. Hodgkin and Huxley experiments have shown that three currents are required to predict the time course of V during an AP. The first two, J_{Na} and J_K, are current densities flowing respectively through Na^+ and K^+ VGCs. The third is J_{leak}, a small current including the flow of all ions crossing the membrane by means *other than* Na^+ and K^+ VGCs. According to HH, J_{leak} is mostly due to Cl^- ions, never discussed in introductory biology material.

Each of these three currents can be modeled with the quasi-ohmic approximation:

$$J_X = g_X(V - E_X) \qquad X = \{\text{Na,K,leak}\} \qquad (1)$$

where $J_X > 0$ when the current flows outside the cell and where E_{Na} and E_K are the reversal (Nernst) potential for Na^+ and K^+ ions given by:

$$E_X = \frac{k_B T}{q} \ln \frac{c_{ext}}{c_{int}} \qquad X = \{\text{Na,K}\} \qquad (2)$$

and where E_{leak} is an empirical constant close to E_{Cl}, chosen so that $J_{Na} + J_K + J_{leak} = 0$ when $V = V_{rest}$ and where c denotes concentrations.

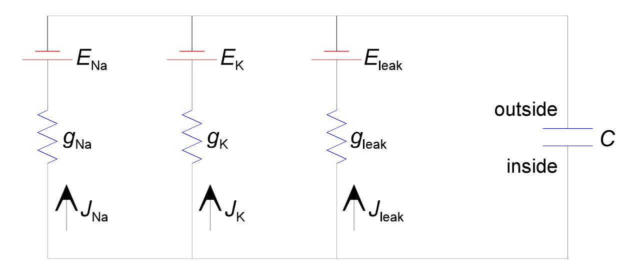


Fig. 2. Circuit model of an axon membrane patch. Note that polarities and directions illustrated are positive.

In a real unmyelinated axon, $E_{Na} \approx 50$ mV, $E_K \approx -77$ mV and $E_{Cl} \approx -60$ mV, while the HH model uses $E_{leak} = -54.4$ mV. The Nernst potential of an ion species is the membrane potential at which this species' current becomes zero. Note that E_X is non zero because a conduction current, caused by V, is required to cancel the diffusion current, due to the concentration gradient. Note also that if the membrane were permeable to a single ion species X, the current would flow until V reached E_X. Therefore, one can assert that "each J_X tends to drive V towards its E_X". As we will see shortly, the combined effect of the three currents is to drive V towards the "target value" V_0, in general different from V_{rest}.

Thanks to Eq. 1, a patch of membrane can be seen as a circuit where J_{Na}, J_K and J_{leak} flow in parallel branches (Fig. 2) that each contribute to a total current increasing or decreasing the charge held by the membrane capacitance C. Since this charge is given by $q = CV$, the derivative of V is determined by the total transmembrane current:

$$\frac{dV}{dt} = -\frac{1}{C}\left(J_{Na} + J_K + J_{leak}\right) \tag{3}$$

In this picture, the small current caused by Na/K pumps is neglected and E_{Na} and E_K are considered constant. This last point should be stressed as it is a source of MCs: charges transferred during a single AP have a large effect of V but a negligible effect on the concentration gradients, simply because the concentration is distributed in the entire cell volume while the charge $q = CV$ is confined to the nanometer-thick Debye layer adjacent to the membrane.

When the RHS of Eq. 3 is positive, V increases, and vice versa. This RHS is zero for a single voltage that constitutes the "target value" V_0, given by:

$$V_0 = \frac{g_{Na}E_{Na} + g_K E_K + g_{leak}E_{leak}}{g_{Na} + g_K + g_{leak}} \tag{4}$$

If g_{Na} and g_K are at their steady-state value, then $V_0 = V_{rest}$. But during an AP, V_0 transiently changes, followed by V. Quantitative description of the time course of g_{Na} and g_K will be given in part IV, where the HH model is implemented, but we give here what is required to understand material presented in part III:

- During phase 1, when Na^+ VGCs open, g_{Na} increases massively. According to Eq. 4, this increases V to $\approx E_{Na}$, a large positive value (≈ 50 mV). According to Eq. 1, it also supplies an inward J_{Na} current that allows V to quickly follow this increase. (Na^+ VGCs start to inactivate before V can reach E_{Na}.)
- During phase 2, g_{Na} drops quickly as Na^+ VGCs are inactivated and g_K increases quickly as K^+ VGCs open. According to Eq. 4, this decreases V to $\approx E_K$, a large negative value (≈ -77 mV). According to Eq. 1, it also supplies an outward J_K current that quickly decreases V toward this new V_0.
- Phase 3 is more complicated (hence the MCs): as the K^+ VGCs slowly close, the reduction of g_K contributes a gradual increase of V_0. However, V needs an inward current to be able to follow V_0 and that cannot be J_K, an outward current. Both J_{Na} and J_{leak} are inward during the recovery phase, but J_{leak} is orders of magnitude larger, *making Cl^- ions the key mechanism of V recovery*.
- Only at the end of phase 3 does V_0 remain constant (at $V_0 = V_{rest}$), allowing V to finally reach it.

III. COMMON MISCONCEPTIONS

Students who first encounter APs find their mechanism complicated and often develop important MCs.[3] We will focus on three of such MCs, labeled A, B and C, which are propagated by pedagogical material itself, including textbooks, web courses or web based animations often used in the classroom. We will present each of them and show how they can be ruled out using physical arguments accessible to an undergraduate.

A) The recovery mechanism

Most introductory biology or physiology textbooks[4] introduce AP dynamics using only Na^+ and K^+ ions, as we summarized in part II. Even more advanced textbooks, despite presenting the HH model, often don't discuss the role of J_{leak}.[5] While this allows for a correct description of phases 1 and 2 of APs (see Fig. 1), it forces the authors to remain vague or silent[6] about the recovery phase.

Often, V recovery is even attributed to an *incorrect*

cause. Among these, many webcourses or animated films and some textbooks explicitly pretend that the increase of V is due to current transported across the membrane by the Na/K pumps.[7] We'll refer to this as «MC A1». Others attribute it incorrectly to Na^+ (A2) or K^+ (A3) currents through the membrane[8] or to recently crossed ions diffusing away from the membrane (A4).

It is expected that some advanced biophysics students, even those familiar with the HH model, will show a form or another of MC A. As a proof, it should be emphasized that MC A1 is *very* common and can be found in lots of reputable material (we even found it in an animated film produced by a Harvard outreach program[9]).

All of these incorrect causes can be ruled out using simple theoretical arguments. First consider MC A1. As said in part II, stoichiometric studies[10] show that Na/K pumps export 50 % more Na^+ ions than they import K^+ ions, thus causing an *outward* current. Not only this cannot cause a V increase, but it hinders it, since an *inward* current is required. Of course, Na^+ and K^+ ions that crossed during an AP eventually need to be pumped back, but given the relative intensity of pump currents, this process is extremely slow (orders of magnitude longer than the duration of an AP) and therefore has little effect on V.

Identical arguments rule out MC A3: as mentioned in part II, the slow decrease in g_K during phase 3 contributes to a slow increase of V_0, but in no way can an outward flow of K^+ ions help V follow that increasing V_0: an inward current is needed.

Sodium currents involved in MC A2 *have* the correct direction through the membrane. Thus, MC A2 can only be ruled out once quantitative simulations in project I will have shown that $J_{Na} << J_{leak}$ during phase 3 (see part IV).

Finally, consider MC A4, in which sodium ions entered during phase 1 and potassium ions leaving the cell during phase 2 are seen as taking much time to equilibrate with the volume they just entered, which somehow would discharge the membrane capacitance. Even though the sodium entering the cell during phase 1 will indeed spread in the cell volume, this occurs on a time scale much shorter than the duration of the recovery: random walks of sodium ions follows the diffusion law, where their diffusion coefficient[11] is $D_X \approx 10^{-9}$ m^2/s:

$$\langle r^2 \rangle = 2D_X t \tag{5}$$

Therefore, to spread past the Debye screening length that is on a nanometer scale, they need less than a nanosecond. To spread to the entire cell, they would still need less than a millisecond, much less than the duration of the recovery from an AP.

B) Amount of charge crossing the membrane

Because the rate of change of V during phase 1 of an AP is very high, qualitative descriptions often refer to «massive», «large» or «quick» sodium influx. Similar wording is also used about phase 2, where it applies to the potassium current.[12]

As a result, many introductory students develop MC B, according to which *all* Na^+ ions (or a large portion of them) rush inside the axon each time an AP is propagated. This MC is also encouraged by schematic illustrations where only a few ions of each species are drawn on each side of the membrane and therefore the proportion being shown to cross is always exaggerated by many orders of magnitude.

Advanced students familiar with the HH model are less likely to show MC B, since the use of constant E_{Na} and E_K reveals that ion gradients are not significantly affected by charge transfers occurring during a single AP (see Eq. 2).

Ruling out MC B involves giving a theoretical estimate of the amount of charge crossing the membrane during phase 1 or phase 2. To do this, we start by estimating the capacitance of the membrane. Since it is very thin (L = 4.5 nm) compared with the cell radius (10^4 nm), it can be considered a parallel plate capacitor. The bulk of a membrane is composed of fatty acid moieties, therefore its dielectric constant should be close to that of oil, $\varepsilon_r \approx 5$. Using $C = \varepsilon A/L = \varepsilon_0 \varepsilon_r A/L$, we find that

$$C \approx 1\ \mu\text{F/cm}^2 \tag{6}$$

Since phase 1 of an AP corresponds to a raise of V from −65 mV to about 40 mV (see Fig. 1), the capacitor charge per unit area $q = CV$ must change by about 10^2 nC/cm^2 during phase 1. This amount represents 6×10^{11} ions/cm^2 or 10^{-12} mol/cm^2 of Na^+ ions. The same figure applies to the transfer of K^+ ions during phase 2.

This is small, but how does it compare to the total stock of ions available ? The volume to surface ratio of a cylindrical axon is $r/2$. Considering that the radius r can be as low as 1 μm, the inside volume of an axon having 1 cm^2 of membrane surface could be as low as $\approx 10^{-4}$ cm^3. The extracellular com-

partment is of comparable volume. The measured outer concentration of Na^+ and inner concentration of K^+ are both $\approx 10^2$ mmol/L. Therefore, the available stock consists of a minimum of $\approx 10^{-8}$ mol, ten thousand times what crosses the membrane during phase 1 or 2 of an AP, even more for larger cells.

The bottom line is: the amount of charge crossing the membrane during one AP is sufficient to change V suddenly, but has negligible impact on the inner and outer concentrations of each ion species.

C) Distribution of net charge

Finally, the common textbook description involving only positive ions (Na^+ and K^+) doesn't allow to compare total positive and negative charges and to see that net charged volumes are only located in fine layers on both sides of the membrane. Many students think that the region holding a net charge occupies a large portion of the cell volume. This MC is again encouraged by schematic illustrations where subtle changes in concentration cannot be illustrated.

Theoretically ruling out MC C would involve understanding how a Debye screening length is evaluated and/or solving the Poisson-Boltzman equation. Fortunately, it can still be ruled out, although less rigorously, in a way accessible to a freshman undergrad: one can argue that oppositely charged layers located on both sides of the membrane attract each other because of the $\sigma/2\varepsilon$ electric field each of them produces. (The charges are not located in the membrane, where $\varepsilon_r \approx 5$, but in aqueous media located on both sides; therefore, $\varepsilon_r \approx 80$ for water is used.) Increasing the distance between them by a distance ΔL requires doing the work (per unit area) $\sigma^2\Delta L/2\varepsilon$ against that field. This work has to be supplied by the thermal energy (per unit area) of the ions forming the charged layer, $(\sigma/e)k_BT$. This gives:

$$\Delta L \approx \frac{2\varepsilon}{\sigma e} k_B T \tag{7}$$

Now since we have shown that $\sigma \approx 10^2$ nC/cm^2, we get $\Delta L \approx 0.4$ nm. This is indeed the scale of the Debye screening length and is of course very small compared to the micrometer range of the axon diameter.

IV. COMPUTATIONAL PROJECT I

We now present computational models allowing students to explore and visualize a correct picture of AP dynamics. Project I, a straightforward implementation of the HH model, will address MCs A1, A2, A3 and B by focusing on the time course and relative importance of V, V_0, J_{Na}, J_K, J_{leak} and $\int J_X\, dt$ during an AP, while project II will address the remaining MCs. This project allows students to explore the effect of parameters, and can either be given as homework or used in classroom demonstration. Introductory students could be supplied the code, which is just a few lines long.

In this first model, we consider a patch of membrane, small enough to have a uniform V. This patch is modeled as a capacitor charged by three independent ionic currents (Na^+, K^+ and leaks; see Fig. 2). Those currents are given by Eq. 1, where E_{Na}, E_K, E_{leak} and g_{leak} take constant values, while g_{Na} and g_K are time- and V-dependant but constrained by maximum values g_{Na}^{max} and g_K^{max}, which correspond to a situation where all VGCs would be open (Table 1).

conductances (mS/cm^2)	reversal potentials (mV)
g_{Na}^{max} = 120 g_K^{max} = 36.0 g_{leak} = 0.3	E_{Na} = 50 E_K = −77 E_{leak} = −54.4

Table 1: constant parameters for project I

To describe g_{Na} and g_K, the HH model uses three "gating variables" m, h and n, each taking values between 0 and 1, such that m^3 and n^4 represent the proportion[13] of activated Na^+ and K^+ VGCs, respectively, while h represents the proportion of Na^+ VGCs that are not inactivated (*ie*. *un*blocked). With these definitions, Eq. 3 becomes:

$$\frac{dV}{dt} = -\frac{1}{C}\begin{bmatrix} g_{Na}^{max} m^3 h (V - E_{Na}) + \\ g_K^{max} n^4 (V - E_K) + \\ g_{leak}(V - E_{leak}) \end{bmatrix} \tag{8}$$

where the negative sign arises from a contradiction in the commonly used sign conventions according to which $V > 0$ means $V_{int} > V_{ext}$ while $J > 0$ means an outward current.

The gating variables are modeled using:

$$\frac{dx}{dt} = \frac{x_\infty(V) - x}{\tau_x(V)} \qquad x = \{m,h,n\} \tag{9}$$

That is, each of them relaxes to a time-dependent steady-state value ("target value") x_∞ with a time constant τ_x. However, x_∞ and τ_x are both V-

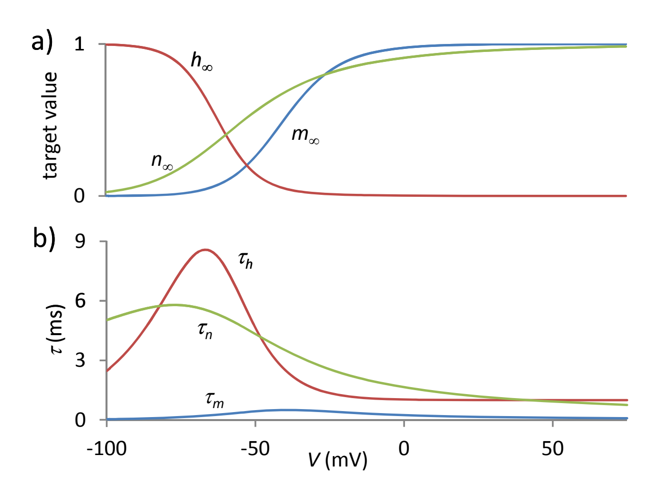


Fig. 3. Target values (a) and time constants (b) of the gating variables m, h and n. (See appendix for corresponding equations.)

dependant (Fig. 3). In other words, the target x_∞ is a moving one.

In a similar way, V can be seen as following the target value V_0 (see Eq. 4), although its time-course is given by Eq. 8, not Eq. 9.

In summary, the HH system is entirely described by four variables, V, m, h and n, whose evolution is given by four first order differential equations (Eqs. 8 and 9). These equations can be numerically integrated using the standard 4th order Runge-Kutta method with a 10^{-3} ms fixed timestep. Initial conditions corresponding to the rest state are $V = -65.0$ mV and the target values of m, h and n for this voltage. A single AP can be illicited by using a sufficiently higher initial value for V. The interested reader can find an abundant literature discussing the HH model in further detail.[14]

To replace MCs A1 through A3 by a correct picture, students should monitor the time course of V, V_0, g_X and J_X, for a given set of parameters. Typical results

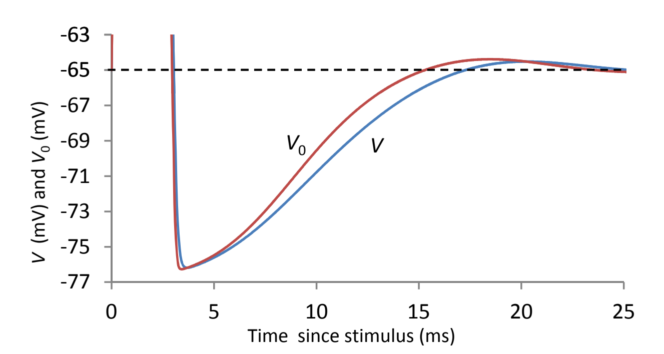


Fig. 4. Time course of the membrane potential and its target value during the recovery phase. Stimulus at $t = 0$.

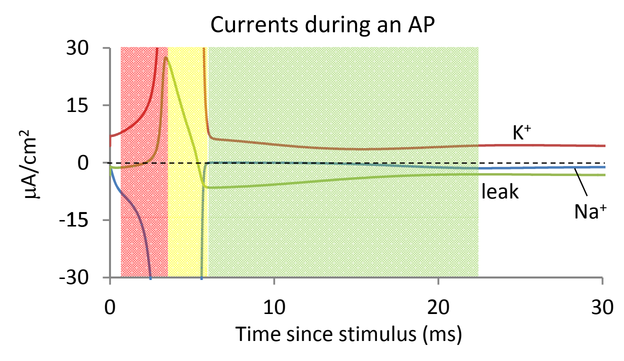


Fig. 5. Relative size of ionic currents during an AP show that the J_{leak} is the only significant inward current during V recovery. Note that truncated J_{Na} and J_K both reach an amplitude >800 µA/cm^2.

are shown in Figs. 4-6. V_0 increases, followed by V, during the recovery period (Fig. 4). The time scale of this V_0 increase is comparable to τ_h and τ_n (both 6-7 ms when $V \approx -70$ mV, see Fig. 3), which is consistent with the fact that V_0 increases both because K^+ VGCs close and Na^+ VGCs recover from inactivation (see Eq. 4). The fact that V can actually follow V_0, however, requires an inward current.

Fig. 5 shows the time course of currents and clearly demonstrates that 1) J_{Na} is negligible during phase 3, especially at its beginning, when $m^3h \approx 10^{-7}$; this rules out MC A2; 2) K^+ ions indeed flow during the recovery phase and their current is significant; however, they can't cause a rise of V because they have the inappropriate sign; 3) the leaks form the only significant current with the correct sign.

The dominant role of the leak current can be further illustrated by simulating non physiological situations where g_{leak} is gradually decreased to zero. Since removing g_{leak} from Eq. 4 changes V_0 and V_{rest}, the time course of V relative to V_{rest} is compared (Fig. 6). As leaks are removed, the delay for full V recovery

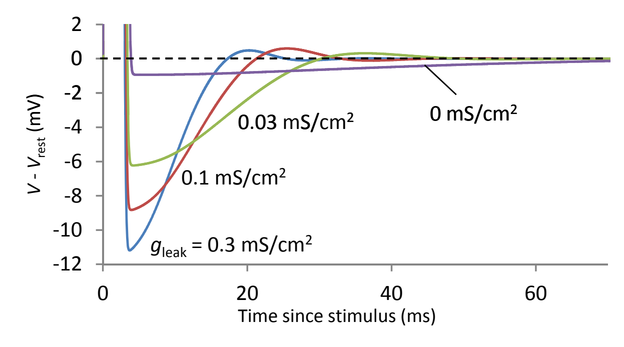


Fig. 6. As g_{leak} is reduced, V recovery takes more time despite the fact that the undershoot is diminished.

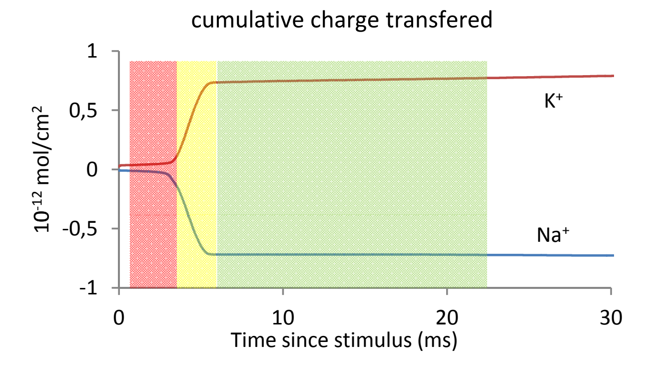


Fig. 7. Total ions transferred through the membrane during an AP amounts to less than 10^{-12} mol/cm^2.

increases by an order of magnitude, despite the fact that the undershoot is significantly reduced. Further, the student can examine the rate of subthreshold relaxation to V_{rest}, which is far slower if $V < V_{rest}$ than if $V > V_{rest}$ (not shown), since J_K is far greater in magnitude than $_{Jna}$.

Now lets consider MC B, according to which most ions permeate during an AP. Computing the total transferred charge $\int_0^t J_X(t')\,dt'$ for each ion species and following its time course shows how few ions cross the membrane during each phase of the AP. Although theoretical calculations already gave the total amount of charge, simulations allow to see the time course (Fig. 7).

Improvements to project I. This project can be modified in several ways, which means that physics educators could present a basic version and assign advanced students with the task to code modifications. A possible improvement involves replacing the Eq. 1 by the Goldman-Hodgkin-Katz current equation[15], allowing students to investigate the effect of rectification. Project I can also be modified to let Na^+ and K^+ concentrations change and implement Na/K pumps, thus allowing them to verify the experimental fact that hundreds of APs can be fired before the concentration gradients run out. An efficient way to model pumps can be found in the literature.[16]

V. COMPUTATIONAL PROJECT II

While project I could address MCs A1, A2, A3 and B, project II will focus on MC C, according to which the cells are charged in most of their volume. To counter this MC, one needs to investigate how charged ions distribute when they diffuse under the influence of the mean electric field that they create. This same approach could also oppose MC A4, but we will focus on the steady state situation here.

There is an abundant literature concerning the diffusion of charges through a membrane, where this phenomenon has both been studied theoretically and numerically, using tools such as the Poisson-Boltzmann equation or advection-diffusion equations.[17] However, these approaches are rarely accessible to the physics introductory student, moreover the biology introductory student. Hence, we designed a novel model of this phenomenon, having simplicity in mind: only four equations will be needed.

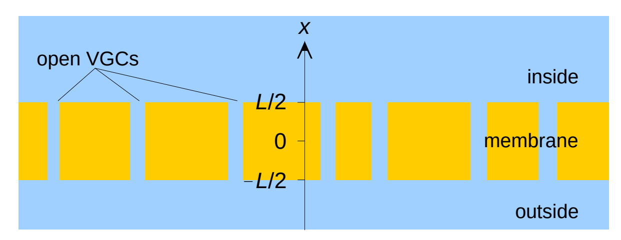


Fig. 8. A small patch of membrane, pierced with open VGCs (pores) is considered. To make the model 1D, a uniform diffusion constant trough the membrane is computed using a weighted average of the blue and yellow parts. See weight α_X in the text.

The patch of membrane considered, of uniform thickness L, is small enough to reduce the problem to 1D (Fig. 8). This membrane is surrounded only by Na^+, K^+ and Cl^- ions, for which the diffusion coefficient is $D_X = 10^{-9}$ m^2/s, and by negatively charged macromolecules, mostly captive in the cell ($D_{macro} = 10^{-11}$ m^2/s). D_X is the same outside the membrane on both sides, as well as in the VGC pores, a reasonable assumption because these pores are aqueous.[18] Since there are no pores for macromolecules, $c_{macro} = 0$ inside the membrane, but D_{macro} is the same on both sides of it.[19]

Ions are subjected to a diffusion current as well as a conduction current. Thus, the flux $\vec{\phi} = \vec{J}/q$ of ion species X having concentration $c_X(x)$ is given by:

$$\phi_{Xx} = -D_X \frac{\partial c_X}{\partial x} + D_X \frac{z_X e E_x}{k_B T} c_X \qquad (10)$$

where $z_X = \pm 1$ is the sign of the charge of ion species X and E_x is the mean electric field produced by *all* ionic species at position x. A plane element of volume located in the interval $[x', x'+dx']$ and containing net charge density $\sigma = FQdx'$ contributes $\sigma/2\varepsilon$ to that field. $E_x(x)$ is therefore given by:

$$E_x(x) = \tfrac{F}{2\varepsilon}\int_{-\infty}^{x} Q\,dx' - \tfrac{F}{2\varepsilon}\int_{x}^{\infty} Q\,dx' \qquad (11)$$

where $\varepsilon_r \approx 80$ (for water) has been used and where $Q = c_{Na} + c_K - c_{Cl} - c_{macro}$ on both sides of the membrane and $\alpha_{Na}c_{Na} + \alpha_K c_K - \alpha_{Cl}c_{Cl}$ inside it. Note that F is Faraday constant (charge of a mole of elementary charges).

Eq. 10 is valid everywhere except at the membrane boundaries, where ions have access to only a fraction α_X of the membrane area A (*ie*. the density of opened VGCs permeable to ion species X). Therefore, a fraction of the ionic flux given by Eq. 10 permeates, while the rest accumulates outside. For example, the rate of change of c_X in infinitesimal volumes located at [L/2, L/2+dx] and[$-L$/2$-$dx, $-L$/2] would be, respectively,

$$\frac{\mathrm{d}c_X}{\mathrm{d}t} = \frac{\alpha_X\phi_{X,x}(L/2) - \phi_{X,x}(L/2+\mathrm{d}x)}{\mathrm{d}x}$$

and

$$\frac{\mathrm{d}c_X}{\mathrm{d}t} = \frac{\phi_{X,x}(-L/2-\mathrm{d}x) - \alpha_X\phi_{X,x}(-L/2)}{\mathrm{d}x} \quad (12)$$

Outside the membrane, however, there is no α factor and Eq. 10 becomes:

$$\frac{\mathrm{d}c_X}{\mathrm{d}t} = \frac{\phi_{X,x}(x) - \phi_{X,x}(x+\mathrm{d}x)}{\mathrm{d}x} \quad (13)$$

Also, since c_X is a point function (it is the number of particles per volume Adx outside the membrane and per volume $A\alpha$dx in the pores), Eq. 13 is also valid for [$-L$/2, $-L$/2]. Note that Eq. 13 is the continuity equation and Eqs 10,12,13 are equivalent to an advection-diffusion equation where the diffusion coefficient is αD inside the membrane and D outside.

Before numerical integration, Eqs. 10-13 are first converted to dimensionless form: using L = 4.5 nm, M = 1 mmol/L = 1 mol/m^3, $D = 10^{-9}$ m^2/s, L^2/D = 20.25 ns, k_BT/eL = 5.7 mV/nm, eML^2F/k_BT = 7.63×10^{-11} F/m and DM/L = 0.2222 mol/m^{2}s respectively for distance, concentration, diffusion coefficient, time, electric field, electric permittivity and ionic flux scales, Eqs. 12-13 remain identical but Eq. 10 becomes

$$\phi_X = -D_X\frac{\partial c_X}{\partial x} + z_X D_X E c_X \quad (14)$$

and Eq. 11 becomes:

$$E(x) = \tfrac{1}{2\varepsilon}\left[\int_{-\infty}^{x} Q\,\mathrm{d}x' - \int_{x}^{\infty} Q\,\mathrm{d}x'\right] \quad (15)$$

where all quantities are now dimensionless and where we replaced «E_x» by «E», the x axis being chosen in the direction of the field.

In summary, the system is entirely described by four concentration fields, each determined by Eqs. 12-13. To integrate these equations, both space and time need to be discretized. At each time step, the four fluxes were evaluated at the x mid-intervals, using an upwind-downwind scheme[20] for the conduction term and centered differentiation for the diffusion term of Eq. 14. Then the concentrations were calculated by evaluating Eqs. 12-13 at the space interval boundaries, again using centered differentiation.

Additionally, the potential field can be evaluated from $E(x)$:

$$V(x,t) = -\int_{-\infty}^{x} E(x',t)\,\mathrm{d}x' \quad (16)$$

where V is non dimensional (the voltage scale being k_BT/e = 25.65 mV).

To replace MC C by a correct picture, the student should set non equilibrium initial concentration fields, with Dirichlet boundary conditions, and watch them settle to a steady-state. We set boundaries at x = ±10.0 and used initial uniform concentrations on each side of the membrane. Biological parameters are given in Table 2. Note that α_K/α_{Na} and α_K/α_{Cl} = 1.22 were calculated from Fig. 3*a*, while α_{Cl} was chosen arbitrarily.[21] Students are also encouraged to simulate other parameters, notably a thicker L that could represent the effect of myelination.

inside concentrations (dimensionless)	outside concentrations (dimensionless)	channel densities ($\times 10^{-3}$)
c_{Na} = 50 c_K = 400 c_{Cl} = 45 c_{macro} = 405	c_{Na} = 440 c_K = 20 c_{Cl} = 455 c_{macro} = 5	α_{Na} = 0.0289 α_K = 1.22 α_{Cl} = 1 α_{macro} = 0

Table 2: initial values and parameters for project II.

Steady state results are shown in Fig. 9. A significant net charge is only found in a nanometer scale region on each side of the membrane. This corresponds to the Debye length and sets a picture much different from MC C. Validity of the model is confirmed by the fact that $V(\infty) \approx V_{rest}$.

Although the thickness of the Debye layer could be approximated by theoretical calculations, project **II**

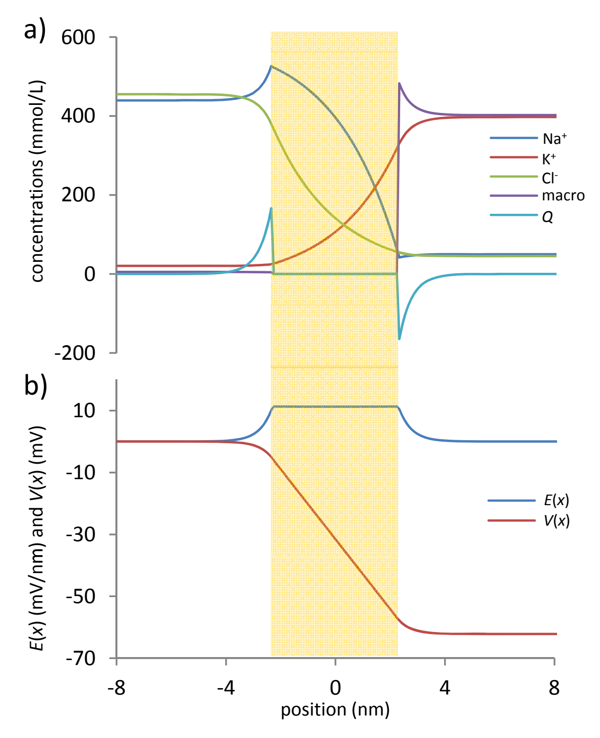


Fig. 9. Concentration profiles (a) and field profiles (b) in membrane at rest show a thin charged layer.

reveals its composition. It should be noted that, due to the thickness of the charged layer, the electric field extends somewhat outside the membrane. Thus, negatively charged macromolecules contribute to the layer of net accumulated charge: even though they cannot cross the membrane, they experience the electric field. Fig. 9 also shows that the concentration profiles inside the pores of the VGCs are exponential, as should be expected from the Boltzmann factor and the fact that the electric field is constant.

The same model can be used to counter MC A4, using time-dependent α_{Na} and α_K. The simplest approach is for α_{Na} to undergo a discontinuous increase by a factor 2000, mimicking phase 1 of the AP. If MC A4 were right, the Na^+ ions entered after this discontinuity would have to stick around the internal side of the membrane for a delay longer than phase 1 and 2 combined, and only then diffuse away. What happens is far from that: using α_X values from Table 2, $J_{Na}(x)$ settles to a quasi-stationary situation on a nanosecond scale (not shown).

Improvements to project II. This project can be modified in several ways. In a course about numerical methods, it would be interesting to improve the numerical scheme: merging Eqs. 10,12,13 into an advection-diffusion equation calls for the use of a semi-implicit method (Crank-Nicolson). The advection term could be coded using an upwind-downwind scheme or perhaps a Fiadeiro-Veronis interpolation.[22] More biophysically-focused improvements are also possible: instead of having constant or stepwize values, α_{Na} and α_K could be time-dependent and modeled using the Hodgkin-Huxley model.

VI. SUMMARY

We have shown how biophysically relevant quantitative information can be obtained with two simple undergraduate level numerical simulations. These simulations help students at getting a correct picture about APs, three MCs having been disproved by theoretical arguments. In one of the subcases, namely the absence of contribution of Na^+ VGCs to the recovery phase of the AP (A2), the simulations were the *only* way to disprove the Mcs. Both numerical projects were also designed to allow students to explore the effect of parameters.

APPENDIX

Fig. 3 shows target values and time constants to be used in Eq. 9. To compute these two figures, it's simpler to rewrite Eq. 9 in the form:

$$\frac{dx}{dt} = \alpha(1-x) - \beta x \qquad x = \{m,h,n\}$$

where

$$\begin{aligned} \alpha_m &= \tfrac{0.1(V+40)}{1-\exp(-4-0.1V)} & \beta_m &= 4\exp(\tfrac{-V-65}{18}) \\ \alpha_h &= 0.07\exp(\tfrac{-V-65}{20}) & \beta_h &= \tfrac{1}{1+\exp(-3.5-0.1V)} \\ \alpha_n &= \tfrac{0.01(V+55)}{1-\exp(-5.5-0.1V)} & \beta_n &= 0.125\exp(\tfrac{-V-65}{80}) \end{aligned} \qquad (17)$$

These functions are fits to experimental data found in Hodgkin & Huxley (1952).

ACKNOWLEDGMENTS

The author wishes to thank I. L'Heureux and A. Payeur (Université d'Ottawa) for fruitful discussions and J. Laplante (Cégep de l'Outaouais) for inspiration. This work was supported in part by a NSERC CREATE grant.

1 Hodgkin and Huxley (1952), "A quantitative description of membrane currents and its application to conduction and excitation in nerve", Journal of physiology, **117**, 500-544.
2 Qualitative introductions to APs can be found in

- Zinke-Allmang *et al* (2013), *Physics for the Life Sciences*, chap. 19;
- Guyton & Hall (2011), *Textbook of Medical Physiology*, chap. 5;
- Lodish (2012), *Molecular Cell Biology*, chap. 22;
- Marieb & Hoehn (2010), *Human Anatomy and Physiology*, chap. 11 (the French translation was consulted);
- Campbell & Reece (2011), *Biology*, Benjamin Cummings, chap. 48 (the French translation was consulted);

Quantitative introductions to the HH model can be found in:
- Nelson (2008), *Biological Physics*, chap. 11-12;
- Dayan & Abott (2001), *Theoretical Neuroscience*, chap. 5;
- Hille (2001), *Ion Channels of Excitable Membranes*, chap. 2;
- Sterratt *et al* (2011), *Principles of Computational Modeling in Neurosciences*, chap. 1-8.

3 For an overview of common MCs found in high school biology textbooks, see Odom (1993), "Action potentials and biology textbooks: accurate, MCs or avoidance ?", The American Biology Teacher, **55**(8), 468-472. Despite our efforts, we haven't found an equally systematic work concerning undergraduate material. However, several assertions about common problems can be found in biophysics textbooks; see for example Nelson (2008), chap. 11-12.

4 This is the case of all textbooks listed under "qualitative introductions" in note 2. Guyton & Hall does mention that other ions may be relevant to AP dynamics, but doesn't even mention the existence of an undershoot.

5 This is the case of all textbooks listed under "quantitative introductions" in note 2.

6 Among the sources listed in note 2, Marieb & Hoehn, Guyton & Hall and even Dayan & Abott remain vague or silent about the mechanism causing *V* recovery, describing only what happens to Na^+ and K^+ VGCs during phase 3. Carefully chosen words are used not to say that J_{Na} or J_K causes *V* recovery, while not presenting what causes it either.

7 Among the "qualitative" sources listed in note 2, this mistake can be found explicitly in Zinke-Allmang *et al*. It is also found abondantly in yet carefully designed web animations. See for example (Web pages were consulted on June 26th, 2013):
- <http://outreach.mcb.harvard.edu/animations/actionpotential_short.swf>;
- <http://www.youtube.com/watch?v=-b32g7GG_AM>;
- <http://dnatube.com/video/1105/Understanding-Action-Potential-and-Nerve-Impulses>;
- <http://youtube.com/watch?v=WjYiwVZBN8E> or <http://fr.wikipedia.org/wiki/Potentiel_d'action>.

8 See for example Campbell & Reece, Fig. 48.11 or <http://youtube.com/watch?v=nrTDY-SzQ7E> (consulted on June 26th, 2013).

9 <http://outreach.mcb.harvard.edu/animations/actionpotential_short.swf>

10 For an exhaustive review, see Läuger, *Electrogenic Ion Pumps*, Sinauer Ass., Sunderland, 313 p. (1991). For more recent reviews, see Scheiner-Bobis 2002. "The sodium pump, it's molecular properties and mechanics of ion transport", European Journal of Biochemistry, **269**, 2424-2433 or Toyoshima *et al*, "First crystal structures of Na,K-ATPase : New light on the oldest ion pump", Structure, **19**, 1732-1838 (2011).

11 Nelson (2008), chap. 4.

12 This is the case of all textbooks listed under "qualitative introductions" in note 2. Even Dayan & Abott refer to a "large influx".

13 The exponents in m^3 and n^4 were chosen empirically but allow the time course of *m* and *n* to be determined by a first order differential equation.

14 In addition to the "quantitative introductions" listed in note 2, the mathematically inclined reader should see Scott (2002), *Neuroscience: a Mathematical Primer*.

15 Hodgkin & Katz (1949) "The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid", *Journal of Physiology*, 108(1), pp. 37-77; see also Hille (2001).

16 See for example:
- Kager *et al* (2000), "Simulated seizures and spreading depression in a neuron model incorporating interstitial space and ion concentrations", *Journal of Neurophysiology*, **84**(1), 495-512.
- Boucher *et al* (2012), "Coupled left-shift of Na_V channels: modeling the Na+-loading and dysfunctional excitability of damaged axons", *Journal of Computational Neuroscience*, **33**(2), 301-319
- Volman and Ng (2013), "Computer modeling of mild axonal injury: Implications for axonal signal transmission", *Neural Computation*, **25**(10), pp. 2646-2681.

17 See for example:
- Offner (1970), "Kinetics of Excitable Membranes Voltage amplification in a diffusion regime ", *Journal of General Physiology*, **56**(2), 272-296;
- French (1974), " Finite Difference Methods for the Numerical Solution of the Nernst-Planck-Poisson Equations" in *Mathematical Problems in Biology*;
- Basu & Sharma (1997), "An improved space-charge model for flow through charged microporous membranes", *Journal of membrane science*, **124**(1), 77-91;
- Cruz, Vilhena & Cortez (2000), "Solution of non-linear Poisson-Boltzmann equation for erythrocyte membrane ", *Brazilian Journal of Physics*, **30**(2), 403-409;

See also Nelson (2008) or Stein (1986), *Transport and diffusion across cell membranes*.

18 Hille (2001).

19 One could also repeat the simulation using different diffusion coefficient for macromolecules inside and outside the cell, to take into account that some are attached and cannot diffuse.

20 Hirsch (1990), *Numerical Computation of Internal and External Flows*.

21 The steady state being only determined by the ratio of α_X values, this choice has no effect on results; it only changes the delay required to reach the steady state.

22 Fiadeiro and Veronis, "On weighted mean schemes for the finite difference approximation to the advection diffusion equation", *Tellus*, **29**(6), 512-522 (1977).

Introduction à la thèse de recherche

Les deux précédents chapitres ont présenté, à l'attention de quelqu'un qui en ignore tout, le fonctionnement de neurones intacts. Ici débute la partie «classique» de la présente thèse, qui concerne nos travaux de recherche. Cette partie comporte les chapitres 3 et 4, de même qu'une large partie de l'appendice C. Cette partie de la thèse est autosuffisante, toute référence aux chapitres 1 et 2 ayant été évitée. Notamment, un résumé du modèle Hodgkin-Huxley (HH), abondamment introduit au chapitre 1, est présenté dans le chapitre 3. Ainsi, le lecteur déjà expérimenté en neurosciences peut débuter ici sa lecture, sans perte de continuité, en ignorant les deux premiers chapitres et les deux premiers appendices.

On estime que 2 % à 3 % de la population canadienne souffre de douleurs neuropathiques, une prévalence qui croît chez les personnes âgées. Ces douleurs découlent de dommages axonaux pouvant être causés notamment par un accident traumatique, une maladie dégénérative du système nerveux, le diabète, l'épilepsie ou même, trop souvent, par la chimiothérapie ou la chirurgie. Chaque fois, elles sont causées par une réponse maladaptative des systèmes nerveux périphérique et central à ces dommages axonaux, laquelle nécessite un délai pour s'établir et perdure ensuite durablement, même après la mort des neurones endommagés l'ayant initialement causée. La prévalence de ces douleurs et leur persistance cause une pression évidente sur le système de santé. Pourtant, leur mécanisme moléculaire demeure méconnu, ce qui stimula notre intérêt et motiva les travaux qui suivent.

Le chapitre 3 établira le contexte de recherche. Nous y présenterons la littérature, les questions de recherche et le design de notre modèle numérique, les aspects plus techniques étant relégués à l'appendice C. Le chapitre 4, lui, reproduit un article qui présente nos principaux résultats.

Plus précisément, le premier objectif du chapitre 3 sera de décrire ce qui est déjà connu au sujet des douleurs neuropathiques et des dommages axonaux. En particulier, notre objectif sera de montrer les liens qui existent entre trois choses :

- les symptômes de douleurs neuropathiques, tels qu'ils sont rapportés par des patients ou observés dans des modèles animaux ;
- l'activité ectopique qu'on observe dans les neurones qui ont été sectionnés, mécaniquement étirés ou encore compressés de façon chroniques, c'est-à-dire leur capacité à initier des potentiels d'action en l'absence totale de stimulus ;
- les cloques que forment les membranes de neurones qui ont été étirés mécaniquement, en particulier celles observées à des noeuds de Ranvier.

En particulier, nous présenterons une revue complète d'un article par Wang *et al* (2009), où les auteurs ont provoqué des cloques membranaires par succion avec une pipette et comparé, avant et après cette opération, le courant transmembranaire obtenu lors d'un

voltage clamp. Ils ont montré de façon très convaincante que les canaux Na_V situés dans des cloques membranaires subissaient un *décalage cinétique irréversible de leurs processus d'activation et d'inactivation*. En d'autres termes, tous les processus qui se déroulent normalement à un potentiel de membrane *V* se déroulent désormais à un potentiel «*V* + *décalage*».

Ce décalage cinétique est une hypothèse très crédible de mécanisme expliquant l'activité ectopique des axones endommagés : comme nous le verrons au chapitre 3, ce décalage *augmente la probabilité d'ouverture* des canaux Na_V quand le neurone est au repos. Ainsi, du courant sodique fuit vers l'intérieur de la cellule, dépolarisant la membrane et l'approchant du seuil d'excitation. Un décallage suffisant peut donc bel et bien rendre le comportement de l'axone ectopique. Dans nos travaux, ce décalage cinétique est donc l'hypothèse de base que nous utilisons pour représenter un dommage affectant un axone.

Le chapitre 3 présentera ensuite une revue des résultats obtenus lors d'autres travaux de simulations fondés sur la même hypothèse : trois articles ont représenté un dommage axonal par un décalage cinétique des canaux Na_V, soit Boucher 2012, Yu 2012 et Volman 2013. La majorité de ces travaux portent sur un noeud de Ranvier isolé, mais les auteurs de Boucher *et al* obtiennent un résultat qui nous inspire, à savoir que des noeuds de Ranvier couplés entre eux peuvent présenter un verrouillage de phase[24].

Deux questions de recherche seront abondamment décrites au chapitre 3, mais peuvent être synthétisées comme suit :

- Les axones trop faiblement endommagés pour adopter d'emblée un comportement ectopique sont-ils parfaitement fonctionnels ? Sinon, comment réagissent-ils à un stimulus prolongé ?

- La propagation d'un train de potentiel d'action complexe (non périodique) le long d'un axone endommagé n'a jamais été étudiée. Comment l'ectopicité affecte-t-elle la «sortie» de l'axone ? Comment la fréquence de stimulation et sa variabilité influencent-elle l'infidélité de cette sortie, quand on la compare à un neurone intact subissant le même stimulus ?

Le chapitre 3 se terminera en présentant, avec plus de détails que dans l'article, la façon dont nous avons conçu un modèle numérique permettant de répondre à ces questions. Nous y verrons notamment que l'axone y est représenté par des compartiments couplés, chaque compartiment correspondant à un noeud de Ranvier et étant décrit par le modèle HH. Nous verrons aussi que nous avons permis aux concentrations $[Na^+]$ et $[K^+]$ d'être graduellement épuisés après la propagation d'un grand nombre de potentiels d'action. Les pompes Na/K, qui tentent de restaurer ces gradients de concentration, sont aussi ajoutées au modèle, d'une façon que nous décrirons. Enfin, la façon dont le modèle d'axone est stimulé devait être conçue de toutes pièces et sera décrite. La simplicité du modèle, qui

[24] Un verrouillage de phase survient quand deux oscillateurs non linéaires, en raison d'un couplage entre eux, ajustent leurs fréquences pour qu'elles forment un rapport de petits entiers. Par exemple, nous verrons au chapitre 4 qu'un verrouillage 1:1 fait en sorte que la zone endommagée de l'axone décharge à la même fréquence que les potentiels d'action incidents.

résume la machinerie des membranes cellulaires à deux types de canaux tensiodépendants et à un type de pompes, permet de mettre l'accent sur les *mécanismes* qui sous-tendent les phénomènes observés. Les aspects purement algorithmiques qui correspondent à ce modèle numérique sont présentés à l'appendice C.

Résultats. Comme nous le verrons ensuite au chapitre 4, ce modèle a permis d'obtenir deux résultats entièrement nouveaux, qui correspondent respectivement aux deux questions de recherche que nous venons d'évoquer :

- Premièrement, dans un axone très faiblement endommagé, qui ne présente initialement aucune activité ectopique, la propagation de potentiels d'action est au départ normale mais, si elle est soutenue suffisamment longtemps, peut *déclencher* l'activité ectopique. Cette trouvaille suggère un mécanisme par lequel des douleurs neuropathiques peuvent apparaître avant la sensibilisation des systèmes nerveux, et pourrait avoir des conséquences thérapeutiques.

- Deuxièmement, nous montrons qu'un axone plus endommagé, qui présente d'emblée une activité ectopique, n'est pas entièrement dysfonctionnel pour autant. Au contraire, quand la partie saine de l'axone achemine des potentiels d'action dans une certaine bande de haute fréquence, que nous appellerons «fenêtre de propagation», la fidélité de la transmission est alors maximale. En effet, nous montrerons qu'il se produit alors un verrouillage de phase 1:1 entre les stimuli et la zone ectopique de l'axone, qui est donc entraînée à la fréquence fixée par le traffic de potentiels d'action incident sur elle. En outre, nous montrerons que ce résultat est suffisamment robuste pour être attendu dans des axones réels : il résiste à du bruit, à des fluctuations dans la périodicité de la stimulation, de même qu'à des changements de couplage entre les noeuds de Ranvier.

Comme le lecteur le découvrira, ces résultats accréditent davantage l'hypothèse que le dommage cellulaire responsable de l'ectopicité des axones et de l'apparition de douleurs neuropathiques est dû à un décalage cinétique couplé des canaux Na_V. L'acceptation de ce modèle permettra ultimement de mieux cibler la recherche visant le développement de thérapies adéquates visant à prévenir les douleurs neuropathiques et leurs complications.

Cette page est intentionnellement blanche.

Chapitre 3 : Membranes endommagées, questions de recherche et construction du modèle

Avec ce chapitre débute l'étude de neurones endommagés, qui est le sujet de nos travaux de recherche. L'objectif de ce troisième chapitre est d'introduire tous les éléments pertinents pour comprendre le contexte de l'article de recherche présenté au chapitre 4 et qui contient nos principaux résultats. La section 3.A présente une revue de littérature et, notamment, justifie notre choix de modéliser le dommage subi par un axone exclusivement par un décalage cinétique couplé des canaux Na_V. La section 3.B énonce les questions de recherche qui ont guidé la production de l'article du chapitre 4 ainsi que les choix de modélisation conséquents.

3.A) Revue de littérature sur les cellules excitables endommagées

Cette première section sert à situer le cadre de nos travaux en présentant ce qui a été fait avant nous. Nous aborderons tant les échelles moléculaire, cellulaire (histologique) et clinique. Les deux premiers blocs définirons les circonstances où une membrane cellulaire forme une cloque et le lien entre cloques, traumatisme physique et douleurs neuropathiques. Le troisième bloc montrera que les canaux Na_V situés dans une cloque présentent un *décalage cinétique couplé* de leur activation et de leur inactivation (*coupled left shift*, *CLS*) et que ce phénomène est relié à de nombreuses pathologies. Enfin, nous terminerons au dernier bloc en présentant l'hypothèse de modélisation des cellules excitables endommagées formulée par notre groupe de recherche (le «Nav-CLS») et les résultats déjà obtenus grâce à cette hypothèse.

3.A.1 Membranes à cloques : normal ou pathologique ?

On définit une **cloque** (*bleb*) comme une excroissance de la membrane qui se produit lorsque cette dernière *est découplée du cytosquelette* et croît sous l'effet de la pression interne de la cellule (Charras 2008a, Tinevez 2009). La membrane peut cesser d'être soutenue par le cytosquelette (plus précisément, le cortex d'actine-spectrine) soit en raison d'une déstabilisation ou d'une dépolymérisation de ce dernier, d'un gain de pression interne ou d'un détachement mécanique. Les cloques apparaissent *à la fois* dans des conditions physiologiques normales et dans des conditions pathologiques.

Conditions physiologiques normales. Les situations normales où on rencontre des cloques incluent la division cellulaire (Tokumitsu 1967, Hickson 2006) et la migration d'une cellule, notamment pendant l'embryogénèse (Charras 2008b, Fackler 2008, Ridley 2011, Paluch 2013). Dans le cadre du phénomène de la migration cellulaire, les cloques se distinguent des pseudopodes et des lamellipodes qui, eux, croissent en raison de filaments du cytosquelette qui poussent sur la membrane. (Notons que ce mode de déplacement impliquant des cloques ne se limite pas à des cellules saines mais est aussi employé par des cellules cancéreuses.)

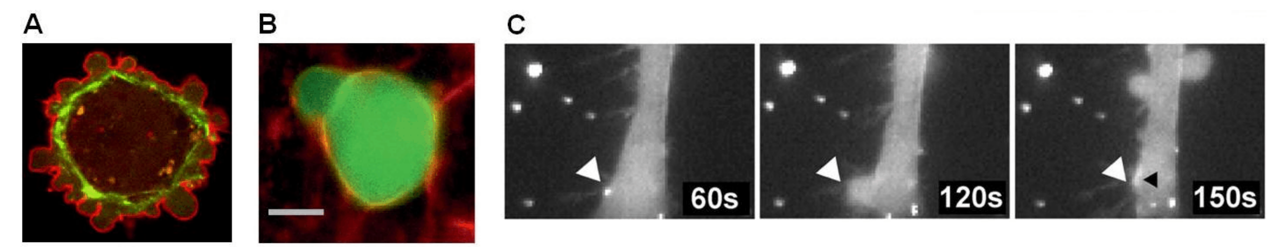


Figure 3.A.1 Dans des conditions non apoptotiques, les cloques apparaissent et se résorbent : A) une cellule dont le cytosquelette est déficient (en vert) est recouverte de cloques, ce que révèle l'observation de la membrane (en rouge) ; B) une cellule souche utilise une cloque pour se mouvoir ; C) un virus induit une cloque au moment où il pénètre dans la cellule. (Figures tirées respectivement de Charras 2008a, Paluch 2013 et Mercer 2008)

La **figure 3.A.1** illustre des cloques qui correspondent aux conditions normales que nous venons d'énumérer. Dans ces situations, l'apparition d'une cloque est toujours suivie de sa résorption, la durée de vie de la cloque étant de l'ordre d'une minute (Charras 2008a). La croissance initiale d'une cloque survient dès que la membrane est détachée du cortex d'actine-spectrine par quelque 100 nm (Sheetz 2006). La résorption, elle, survient après que l'intérieur de la cloque ait été, par un mécanisme toujours inconnu, tapissé de filaments d'actine (Hagmann 1999, Fackler 2008). La **figure 3.A.2** illustre les étapes de la vie d'une cloque. Notons que l'apparition de cloques qui se résorbent a aussi été observée pendant l'infection d'une cellule par un virus, illustrée à la figure 3.A.1 (Mercer 2008).

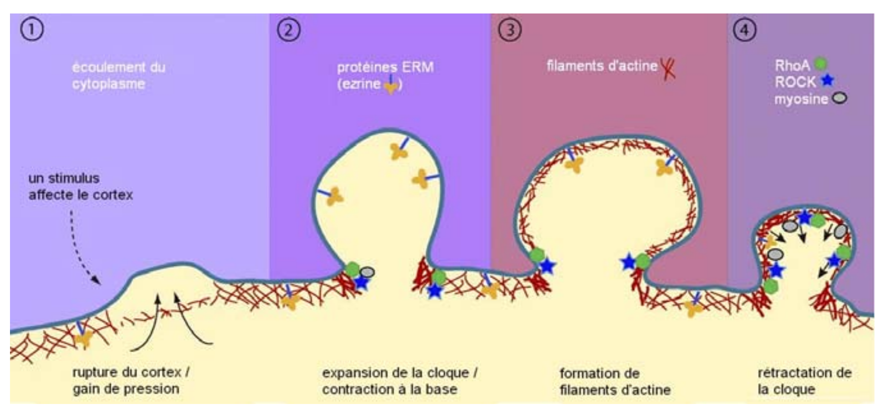


Figure 3.A.2 Dans un contexte de motilité cellulaire ou de mitose, les cloques se résorbent après que leur intérieur ait été tapissé de filaments d'actine. (Figure adaptée de Fackler 2008)

Les cloques et l'apoptose. En plus des cas où les cloques apparaissent spontanément, jouent un rôle et se résorbent ensuite, des cloques se produisent aussi dans le contexte de l'apoptose, c'est-à-dire la mort cellulaire programmée (Robertson 1978, Mills 1998, Coleman 2001, Sebbagh 2001). Dans une telle situation, elles ne se résorbent pas après leur apparition et servent plutôt à fractionner le cytoplasme en petites bulles qui seront ensuite phagocytées. En raison de leur lien avec l'apoptose, les cloques ont longtemps été vues comme des manifestations de situations pathologiques.

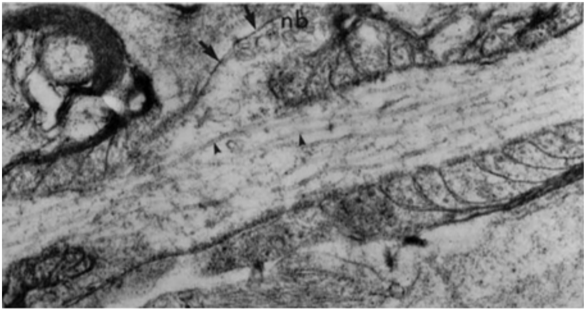
Cloques artificielles. En laboratoire, on peut aussi reproduire des cloques, notamment par un choc osmotique, par la destruction au laser du cytosquelette, etc. Des cloques peuvent aussi se produire par inadvertance lorsqu'une succion excessive est utilisée lors de la formation du seau gigohm d'un patch clamp, ce qui n'est pas sans conséquence pour la validité des mesures (Milton 1990 ; voir aussi Boucher 2011, section 3.7). Comme nous le verrons au bloc 3.A.3, c'est cette méthode qui a été utilisée dans Wang 2009 pour produire

volontairement des cloques et évaluer leur effet sur la cinétique des canaux Na_V qui y sont localisés.

3.A.2 Cloques, neurotraumatismes et douleurs neuropathiques, des phénomènes reliés

Bien que la membrane d'un axone soit exposée au milieu extracellulaire aux noeuds de Ranvier, il ne s'y forme jamais de cloques dans des conditions normales. Toutefois, en cas de **traumatisme crânien**, des ondes de tension et de cisaillement parcourent les membranes cellulaires alors que les tissus se frottent les uns sur les autres (Crippen 2012). En périphérie de la zone d'impact, ces contraintes mécaniques ne sectionnent pas les axones, mais peuvent néanmoins avoir causé des dommages à l'échelle moléculaire (Vik 2006). L'équivalent peut se produire partout en cas de traumatisme léger. Alors, tout ce qui repose sur des interactions moléculaires faibles est à risque, notamment l'association des sous-unités d'une protéine, l'association entre la membrane et le cortex d'actine-spectrine, etc. L'apparition de cloques est donc attendue.

Une confirmation directe que des cloques peuvent être causées par des forces mécaniques externes à l'organisme a été apportée expérimentalement (Maxwell 1996 ; voir aussi Wang 2009). Pour ce faire, des traumatismes physiques ont été simulés en étirant mécaniquement des neurones, sans pour autant atteindre le point de rupture. La **figure 3.A.3** illustre une cloque qui est alors apparue à un noeud de Ranvier. Notons que la cloque affecte une proportion seulement de la surface axolemmale du noeud de Ranvier.



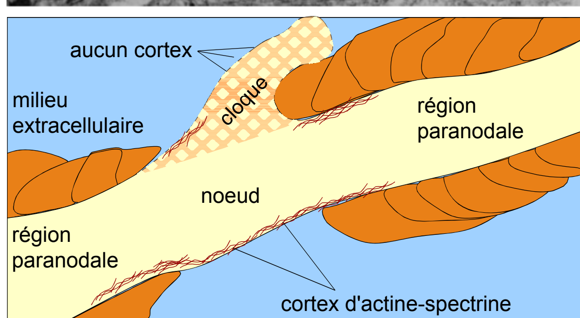


Figure 3.A.3 Cloque apparue à un noeud de Ranvier d'un axone étiré mécaniquement en laboratoire. La légende colorée que nous avons tracée souligne que la membrane de la cloque se distingue par l'absence de cortex d'actine-spectrine. (Photo : Maxwell 1996)

Conséquences. L'apparition de dommages aux membranes de neurones qui ne sont pourtant pas sectionnés est reliée à une condition clinique appelé **lésion axonale diffuse** (*diffuse axonal injury*) au cours de laquelle on observe une dysfonction de l'influx nerveux, l'apparition de *douleurs neuropathiques*, en plus d'une augmentation rapide de la concentration interne d'ions Na^+, laquelle déclenche une **dégénérescence secondaire** des neurones.
Nous allons maintenant détailler ces trois conséquences puis, au bloc 3.A.3, nous présenterons un *mécanisme qui relie ces dommages à la présence de cloques* et plus précisément à l'effet des cloques sur la fonction des canaux Na_V y étant situés.

Dégénérescence secondaire. L'influx d'ions Na^+ dans l'axoplasme entraîne le ralentissement puis l'inversion des échangeurs Na/Ca, ce qui cause une augmentation rapide de la concentration interne d'ions Ca^{++} (Wolf 2001). Or, la fonction normale de ces derniers ions est d'agir comme messagers, un de leur rôle étant d'activer des enzymes protéolytiques. Puisque ces enzymes clivent notamment la spectrine, il s'ensuit une

désorganisation du cytosquelette qui cause davantage de cloques et donc une rétroactivation du phénomène. Une cascade de réactions biochimiques aboutit à la dégradation des canaux Na_V (Iwata 2004), au détachement de l'axone et à sa mort, quelques heures ou jours après le traumatisme initial (Wolf 2001, Arundine 2004).

Dysfonction de l'influx nerveux et activité ectopique. Avant la mort cellulaire entraînée par une lésion axonale diffuse, on observe de nombreux phénomènes qui perturbent la transmission de l'influx nerveux dans les axones dont la membrane a été endommagée. Ici, nous considérerons les observations expérimentales, mais nous verrons plus loin (tant au bloc 3.B.4 qu'au prochain chapitre) que l'équivalent peut être obtenu lors de simulations numériques fondées sur le mécanisme que nous présenterons au bloc 3.A.3.

La plupart de la littérature réfère à des mesures effectuées sur des neurones du système nerveux périphérique de souris ou de rats. On y mesure que les neurones endommagés physiquement ont une excitabilité plus élevée quand on les stimule (Greer 2012, Kocsis 2000, Liu 2000c). De plus, quand on ne les stimule pas, on observe fréquemment de l'**activité spontanée**, c'est-à-dire que le neurone émet des potentiels d'action comme il le ferait en présence de stimuli, bien qu'aucun stimulus ne soit présent. L'activité spontanée provient en partie des soma des neurones, situés dans les ganglions spinaux mais est plus souvent **ectopique**, c'est-à-dire qu'elle débute à un endroit anormal. Le foyer ectopique est typiquement la zone endommagée de l'axone et les potentiels d'action qui y prennent naissance s'en éloignent *dans les deux sens* le long de l'axone. De l'activité ectopique a été observée dans des axones ayant subi une compression chronique, ayant été sectionnés ou ayant subi une ligature (Kajander 1992, Sheen 1993, Tal 1999, Liu 2000a,b, Han 2000, Liu 2002, Amir 2002, Ma 2007, Greer 2012). Dans une partie de ces cas, l'activité ectopique prend la forme de **rafales** (*bursts*) périodiques de potentiels d'action, entrecoupées par des épisodes où le potentiel de membrane décrit des **oscillations inférieures au seuil** (*subthreshold oscillations*, *STOs*). La **figure 3.A.4** illustre un de ces cas.

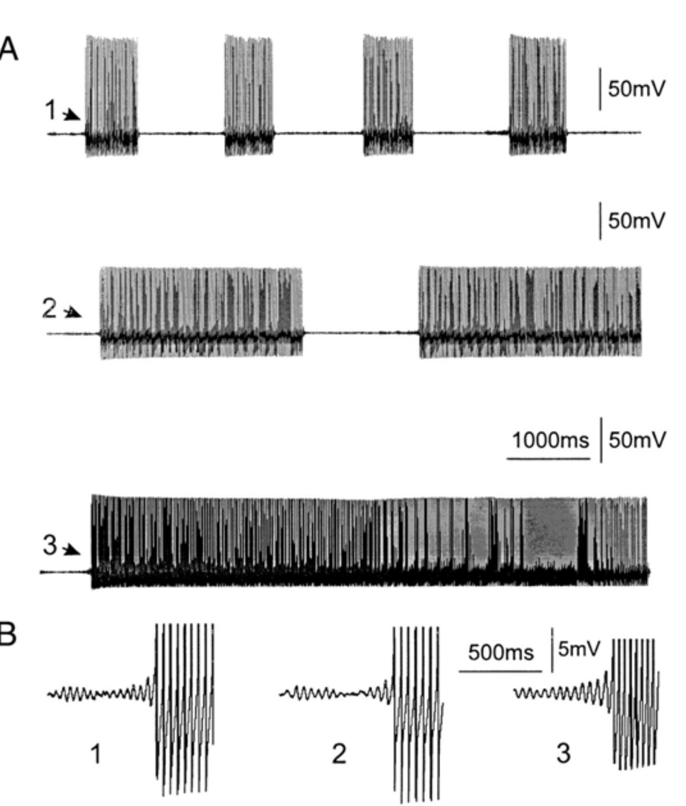


Figure 3.A.4 A) L'activité ectopique d'un neurone endommagé peut être tonique (trace 3) ou prendre la forme de rafales (traces 1 et 2). B) Agrandissements montrant que les rafales sont entrecoupées d'oscillations inférieures au seuil. (Figure : Liu 2002)

Douleurs neuropathiques. La présence d'activité ectopique est fortement corrélée aux phénomènes de **douleur neuropathique**, un nom générique qu'on donne à toute sensation douloureuse anormale (brûlures, démangeaisons, sensations de «décharges

électriques» ou d'«aiguilles», etc.) causée par une lésion affectant le système nerveux périphérique ou central (par exemple une lésion axonale diffuse). Ces sensations s'accompagnent souvent d'**allodynie**, c'est-à-dire d'une réaction douloureuse causée par un stimulus normalement indolore (ex : contact des vêtements), d'**hyperalgésie**, c'est-à-dire d'une réaction excessivement douloureuse à un stimulus normalement peu douloureux ou de diverses composantes de sensations anormales (Loeser 2011).

Les sujets qui expérimentent des douleurs neuropathiques souffrent d'un dérèglement du système de perception du toucher (normalement douloureux ou non). Les neurones sensitifs spécialisés dans la perception de la douleur, appelés **nocicepteurs**, perçoivent les déformations mécaniques, les températures excessives ou certains stimuli chimiques. Ils sont distincts des autres neurones sensitifs (mécanosensibles ou thermosensibles) impliqués dans la sensation du toucher non douloureux. Normalement, les nocicepteurs ne produisent des potentiels d'action qu'en présence de stimulus importants, ce qui excite ensuite des interneurones de la moelle épinière. Ces derniers, lorsqu'ils déchargent à leur tour, ont deux effets : certains provoquent un réflexe de protection contre la douleur (ils activent donc directement des neurones moteurs) ; d'autres acheminent les signaux à l'encéphale (**figure 3.A.5**), le plus souvent en empruntant un faisceau d'axones appelé **tractus spino-thalamique**, ce qui aboutit entre autres à la sensation de douleur, à sa composante émotionnelle, etc. Chez un sujet normal, les neurones sensitifs responsables du toucher non douloureux n'activent donc pas les neurones de ce tractus.

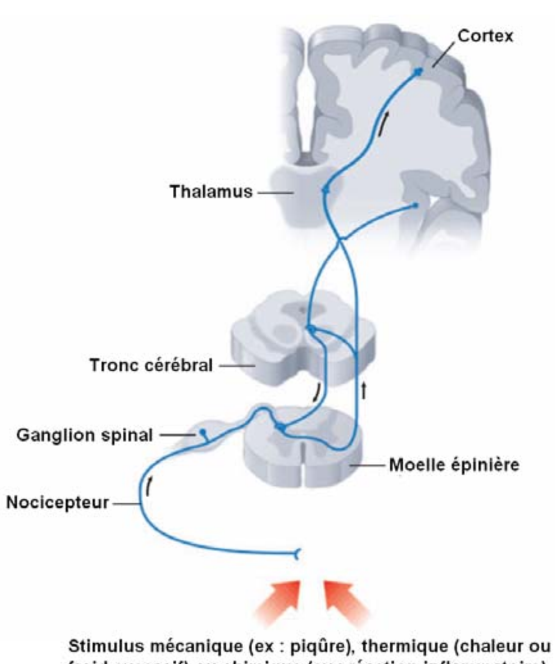


Figure 3.A.5 Parcours normal de la perception de la douleur. (Figure adaptée de Costigan 2009)

Mécanismes de la douleur neuropathique. Il a été démontré directement (Shankarappa 2012) qu'une dysfonction des canaux Na_V est une condition suffisante pour faire apparaître des douleurs neuropathiques. En général, ce qui déclenche leur apparition chez un sujet est toujours une lésion le long du parcours de la nociception ou du parcours des perceptions non douloureuses. Coutaux 2005, Truini 2006, Fazen 2007, Costigan 2009 et Nickel 2012 proposent d'excellentes revues des mécanismes par lesquels cette lésion se transforme en sensation anormale de douleur, mécanismes que nous allons nous contenter de résumer ici.

Tout d'abord, la lésion à des neurones sensitifs *déclenche dans les neurones lésés une intense activité ectopique*, laquelle peut durer tant que le neurone atteint n'est pas encore mort. Bien sûr, cette activité ectopique active tout le reste du parcours sensitif et cause une douleur immédiate, comme si un stimulus particulièrement intense avait réellement été présent. Cependant, cette **phase aigüe** n'est que le début du phénomène : quelques jours après la lésion, cette activité inhabituelle et persistante provoque des changements en

aval, dans le reste du parcours sensitif, lesquels demeurent *même si on enlève les neurones initialement atteints* :

- Les neurones périphériques tentent de se régénérer, de nouvelles fibres non myélinisées croissant à partir des neurones sectionnés ou endommagés. Elles ont cependant un comportement anormal : elles sont associées à davantage d'activité ectopique, à un fort niveau d'oscillations inférieures au seuil, à une sensibilité accrue aux stimulus mécaniques ou thermiques et à une augmentation de l'expression de canaux Na_V dans les nocicepteurs qui n'étaient pas initialement affectés. Cette séquence de phénomènes est un cas de **sensibilisation périphérique**.
- Que ce soit sous l'effet d'une lésion directe ou en conséquence d'une sensibilisation périphérique, les neurones du tractus spino-thalamique peuvent augmenter leur activité d'arrière-plan (*background activity*) et augmenter leur taux de réponse aux stimulus. En particulier, ils peuvent se mettre à répondre à des stimulus normalement indolores. Cette séquence de phénomènes s'appelle la **sensibilisation centrale**. Encore ici, l'expression des canaux Na_V est impliquée.
- Ensuite, quand les neurones sensitifs initialement lésés finissent par mourir, d'autres changements à l'excitabilité du système nerveux central peuvent survenir. Ces changements peuvent être très intriqués. Par exemple, un neurone mécanosensible, responsable d'une sensation non douloureuse, peut avoir pour effet d'activer un interneurone qui inhibe les parcours de nociception. En son absence, ce dernier parcours devient plus sensible.

En somme, nous avons montré que les cloques affectant la membrane d'un axone, l'activité ectopique, la dégénérescence secondaire et les douleurs neuropathiques sont des phénomènes qui, bien que n'étant pas toujours tous présents simultanément, présentent des liens évidents. Au prochain bloc, nous présenterons un *mécanisme qui relie causalement l'activité ectopique et la dégénérescence secondaire à la présence de cloques*.

3.A.3 Décalage cinétique couplé (CLS) des canaux Na_V

Avant 2009, plusieurs indices semblaient impliquer les canaux Na_V dans le mécanisme qui causait les diverses conséquences d'une lésion axonale diffuse, notamment l'afflux interne d'ions Na^+, la dégénérescence secondaire et l'activité ectopique. En particulier, on observait qu'en présence de tétrodotoxine (TTX), l'inhibiteur classique des canaux Na_V, les dégâts étaient limités (Wolf 2001 ; voir aussi Shankappara 2012 où on utilise un autre inhibiteur). En 2009, l'équipe du laboratoire de Catherine E. Morris a mesuré pour la première les conséquences directes sur les canaux Na_V d'un traumatisme mécanique subi par les membranes cellulaires (Wang 2009).

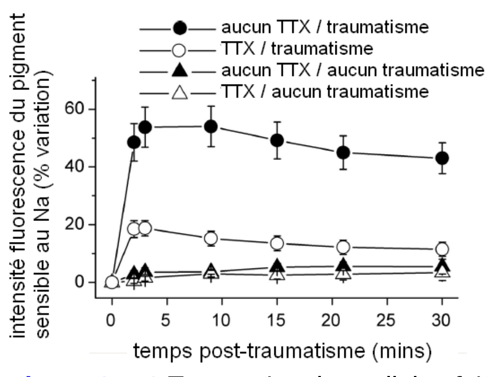


Figure 3.A.6 Traumatiser les cellules fait entrer du Na^+ par les canaux Na_V. (Figure adaptée de Wang 2009)

L'une des méthodes utilisées dans cet article nécessitait de préparer des cellules en les faisant exprimer des canaux $Na_V1.6$ (l'isoforme présent dans les noeuds de Ranvier), d'y injecter un pigment qui réagit en présence de sodium, de les étirer mécaniquement et de mesurer le changement de fluorescence subséquent. Comme le montre la **figure 3.A.6**, moins

de deux minutes après l'étirement mécanique, un gain important de la fluorescence due au pigment était observé, ce qui signifie que les ions Na^+ affluaient dans les cellules en conséquence directe de l'étirement. De plus, en répétant l'expérience en présence de TTX, on mesurait que l'afflux était nettement moins important (bien que non nul), ce qui signifie que les ions sodium traversaient bel et bien par les canaux Na_V qui désormais «avaient des fuites» en raison de l'étirement mécanique.

Dans Wang 2009, une seconde méthode expérimentale a aussi été employée pour traumatiser mécaniquement les membranes cellulaires : une succion excessive était appliquée avec une pipette de patch clamp afin de produire une cloque. Plus précisément, le protocole consistait d'abord à appliquer une succion minimale pour former le sceau gigohm et à mesurer la réponse des canaux Na_V à une famille de voltage clamp utilisant des sauts de tension différents, puis ensuite à appliquer la succion nécessaire à endommager la membrane et à recommencer les mêmes mesures de voltage clamp, à toutes les secondes suivant le début de l'application de la succion. L'intérêt de ce protocole est de permettre de *comparer les mêmes canaux avant et après le dommage*.

La **figure 3.A.7** montre, superposés, les traces $J_{Na}(t)$ enregistrées suite à des sauts identiques (de $V = -110$ mV à $V = -10$ mV) répétés à toutes les secondes à partir du début de la succion. Les 17 premières traces sont différentes, ce qui montre que la membrane met environ 17 secondes, après la formation de la cloque, pour changer de nature d'une façon qui affecte les canaux Na_V qu'elle contient. Par la suite, les traces sont superposées (si on ignore le bruit). De plus, les changements enregistrés sont *irréversibles* : une minute plus tard, la trace enregistrée (non illustrée) est identique à la trace #20 de la figure 3.A.7, non à la trace #1.

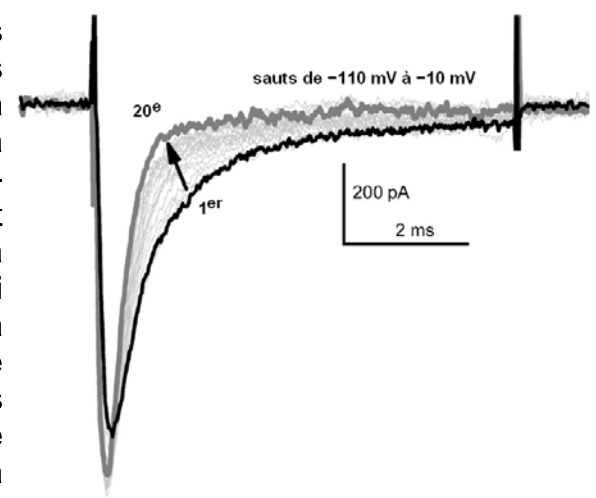


Figure 3.A.7 En moins de 20 secondes de succion, le courant J_{Na} enregistré pendant un même saut de tension est modifié : l'activation et l'inactivation sont devenus toutes deux plus rapides. (Figure adaptée de Wang 2009)

La figure 3.A.7 montre de premières conséquences des dommages affectant la membrane : J_{Na} atteint son maximum plus tôt et son amplitude décroît plus tôt aussi. En d'autres termes, l'activation et l'inactivation sont toutes deux devenues plus rapides. À l'extrémité droite des traces $J_{Na}(t)$, on constate aussi un changement dans la quantité de courant persistent, celui qui correspond au mode d'inactivation lent des canaux $Na_V1.6$.

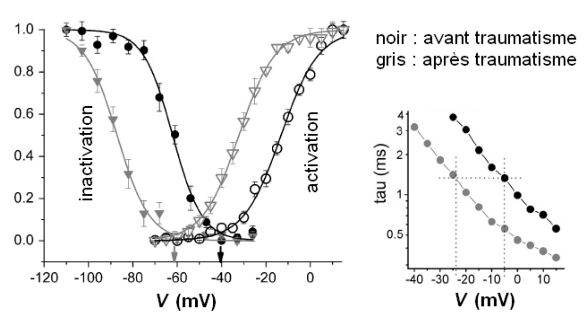


Figure 3.A.8 Traumatiser la membrane décale vers la gauche la valeur limite et la constante de temps de l'activation et de l'inactivation (tous de la même valeur, ici 18 mV). (Figure adaptée de Wang 2009)

Pour caractériser les changements subis par les canaux, les valeurs limites de l'activation et de l'inactivation, respectivement analogue à m_∞^3 et h_∞ dans le modèle HH, de même que la

constante de temps τ_h, ont été obtenues à partir des mesures effectuées avant l'application de la succion (à des fins de référence, un résumé du modèle HH est présenté à la section 3.B). La procédure a ensuite été répétée pour les données après la succion. Comme le montre la **figure 3.A.8**, ces données révèlent que *toutes* les courbes ont subi un décalage cinétique vers les potentiels plus hyperpolarisés, c'est-à-dire un décalage *vers la gauche* sur la figure. On note que la translation a la même valeur pour l'activation et l'inactivation. Les mesures sur une «patch» où la proportion de canaux en mode d'inactivation lent était importante a aussi montré que le décalage vers la gauche affectait également les courants persistants.

Soulignons que le décalage vers la gauche s'applique aussi au courant de fenêtre des canaux Na_V. En conséquence, quand $V = V_0$, les canaux Na_V laissent passer un courant de repos bien plus important. Comme le montre la **figure 3.A.9**, un CLS modéré (10 mV sur la figure) cause un gain considérable (près de 1200% dans le cas illustré !) de ce courant sodique de repos. En d'autres termes, les canaux Na_V «ont des fuites», ce qui explique l'afflux interne d'ions Na^+ dont nous avons déjà discuté. Notons qu'une entrée aussi importante d'ions Na^+ est interprété par les canaux voisins de la cloque comme l'arrivée d'un potentiel d'action. On peut donc s'attendre à une dysfonction de l'influx nerveux dans les cellules affectées.

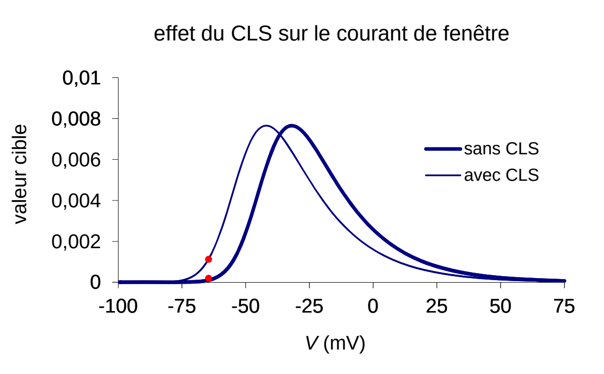


Figure 3.A.9 Un CLS, même modéré, augmente massivement le courant de fenêtre pour $V \approx V_0$.

Indirectement, ces résultats de Wang 2009 ont été confirmés par de nombreux auteurs. En effet, Boucher 2011 a comparé les mesures des propriétés cinétiques des canaux $Na_V1.6$ publiées par de nombreuses sources et montré que les auteurs ayant réalisé leur patch clamp en *mode cellule attachée* ou sur des neurones traumatisés rapportaient typiquement des courbes d'activation et d'inactivation décalées vers la gauche comparativement à celles publiées par les auteurs qui avaient utilisé le *mode cellule entière*. Comme il est probable de traumatiser la membrane par inadvertance en utilisant le mode cellule attachée, ces nombreuses mesures confirment qu'un décalage cinétique se produit dans ce dernier cas.

Plusieurs possibilités explicatives viennent en tête pour interpréter les résultats ci-dessus. D'abord, la création de la cloque pourrait avoir séparé les sous-unités protéiques qui composent le canal $Na_V1.6$; les auteurs de Wang 2009 ont écarté cette possibilité en répétant les mesures sur les canaux composés uniquement de la sous-unité α et en montrant que l'absence des autres sous-unités ne change rien au résultat obtenu. Il est clair aussi que les dommages dus aux protéases activées par les ions Ca^{++} n'ont pas encore pu endommager les canaux Na_V, qui manifestent des changements cinétiques en quelque 17 secondes, alors que l'influx de calcium prend quelque deux minutes à se produire (Wolf 2001) : les changements cinétiques sont donc manifestés *par des canaux*

Na_V intacts[25]. Ensuite, la vue d'un plus grand courant maximal sur la figure 3.A.7 aurait pu faire penser que la création de la cloque augmentait le nombre de canaux dans la «patch» mesurée (interprétation utilisée dans Milton 1990 pour expliquer l'effet d'une cloque obtenue par inadvertance lors d'un patch clamp) ou qu'elle augmentait uniformément leur probabilité d'ouverture. Toutefois, un tel scénario aurait produit, pour un même saut de tension, une trace $J_{Na}(t)$ de maximum plus grand mais non d'activation et d'inactivation plus rapide. En somme, le seul scénario fonctionnel est celui retenu par les auteurs : un décalage cinétique vers la gauche.

Mécanisme. Pour expliquer le phénomène du décalage, on procède en deux temps. Tout d'abord, une observation frappante est l'égalité du décalage vers la gauche applicable à l'activation et de celui applicable à l'inactivation. Le modèle le plus simple pour expliquer qu'ils soient identiques est de faire appel au *couplage cinétique* que nous avons défini à la section 1.C : en d'autres termes, le plus probable est que le mécanisme induit par le dommage ne décale directement *que l'activation*, mais que le couplage étroit de l'inactivation fasse en sorte qu'elle «suive» l'activation. C'est d'ailleurs pourquoi le phénomène a été baptisé *coupled left shift* par les auteurs de Wang 2009. (Nous traduirons cette appellation par «**décalage cinétique couplé**», mais utiliserons l'acronyme anglais CLS.)

Il ne reste donc qu'à expliquer comment l'apparition d'une cloque peut affecter l'activation. Pour ce faire, les auteurs de Wang 2009 postulent que les canaux $Na_V1.6$ sont normalement insérés dans un radeau lipidique, que la création d'une cloque désorganise ce radeau et que, dans un environnement lipidique différent, les senseurs de tension du canal se déplacent avec plus de facilité vers la position correspondant à l'ouverture. Pour soutenir cette explication, ils citent les travaux de simulation de Patra 2005, montrant que le profil des forces moyennes (parallèles à la membrane) exercées sur une protéine transmembranaire est complètement différent selon que la membrane est composée seulement de phospholipides ou d'une quantité égale de phospholipides et de cholestérol, comme dans un radeau lipidique. Toujours pour soutenir cette explication, le même laboratoire a effectué des mesures (sur des canaux $Na_V1.4$) comparant le comportement des canaux d'une même «patch» à des dommages de plus en plus importants (Morris 2012b, pp. 25-28) : les mesures obtenues montrent un CLS croissant graduellement *à chaque canal* (conformément au scénario voulant que la dégradation de la membrane soit graduelle. Si le CLS était causé par la dissociation du canal et d'un partenaire lipidique, par exemple, la réponse ne serait pas graduelle.

Il vaut aussi la peine de souligner que cette explication du décalage cinétique couplée est cohérente avec le modèle énergétique de l'activation présenté dans Hodgkin 1952e, selon lequel l'ouverture d'un canal (causée par le mouvement d'une large q par une distance ℓ dans une membrane d'épaisseur d) entraîne une changement d'énergie libre $\Delta G = \Delta G_0 - qV\ell/d$: si le changement d'environnement est en cause, seul ΔG_0 serait affecté : la membrane désorganisée étant plus mince et plus fluide, il paraît raisonnable que ΔG_0 diminue. Or, cette diminution est équivalente mathématiquement à remplacer V

---

[25] Cette situation est à distinguer des canaux dysfonctionnels (*channelopathies*) dus à des malformations génétiques, par exemple.

par *V + CLS*, comme l'a lui aussi signalé Boucher 2011.

Autres confirmations. Depuis 2009, de nombreux résultats expérimentaux ont été publiés et vont dans le sens du modèle expliquant le décalage cinétique couplé par l'interaction entre les canaux Na_V et leur environnement lipidique dégradé. D'abord, nous savons maintenant que la structure des canaux est cruciforme et non cylindrique (voir figure 1.C2.1), favorisant une forte interaction avec la bicouche. Ensuite, l'effet qu'ont les lipides adjacents a davantage été étudié (notamment Zheng 2011 ; voir aussi Phillips 2009, Dart 2010 et Jiang 2012 pour des revues, Morris 2011 pour une discussion), ce qui confirme que des canaux Na_V, ainsi que de nombreux autres canaux, sont insérés dans des radeaux lipidiques et que leur interaction avec ces radeaux a un effet sur leur cinétique d'activation. (Cependant, aucun résultat n'est encore disponible pour l'isoforme Na_V1.6 précisément.) Enfin, Dinic 2013 a montré que la formation et le maintien de radeaux lipidiques n'est possible qu'en présence de filaments d'actine et, notamment, que ces radeaux se désorganisent bel et bien dans les cloques, où les filaments d'actine sont absents.

En somme, les résultats présentés dans ce bloc ont montré que l'apparition de cloques *cause* un décalage des canaux Na_V, ce qui *cause* un influx d'ions Na^+ déclenchant la dégénérescence secondaire des axones. Comme le montreront les données de simulation que nous présenterons au bloc suivant, ainsi que nos propres travaux présentés au chapitre 4, le décalage cinétique des canaux Na_V *cause* aussi de l'activité ectopique liée aux douleurs neuropathiques. En somme, cloques, dégénérescence secondaire et douleurs neuropathiques ne sont plus seulement corrélés, il existe désormais un lien de cause à effet entre eux.

3.A.4 Hypothèse de travail : tout dommage à une cellule excitable équivaut à un CLS

Jusqu'à présent, il a surtout été question de lésion axonale diffuse, d'étirement de cellules et de succion arrachant des membranes à leur cytosquelette, c'est-à-dire de dommages *mécaniques*. Toutefois, nous devons souligner que des cloques (ou une désorganisation similaire de la membrane) apparaissent aussi en cas d'ischémie, d'inflammation, de chimiothérapie, de maladies dégénératives du système nerveux, etc. (voir Morris 2012a pour une revue). Tous ces phénomènes sont aussi liés à de potentielles douleurs neuropathiques. En somme, le CLS n'est pas un mécanisme qui peut décrire seulement le comportement de cellules traumatisées physiquement, mais celui de *toute cellule excitable malade*.

Nos travaux de recherche présentés au chapitre 4, comme les autres travaux numériques ayant été réalisés depuis 2009 dans notre groupe de recherche (Boucher 2012, Yu 2012), s'inscrivent donc dans ce cadre général où *tout dommage subi par une cellule excitable peut être modélisé par un CLS*. Ce postulat est tout à fait raisonnable puisque, quels que soient les autres dommages que la cellule ait pu subir et notamment les changements similaires qui affecteraient d'autres protéines situées dans les cloques, il est clair que l'excitabilité de la cellule dépend au premier chef des canaux Na_V, responsables de l'initiation des potentiels d'action. Il est clair aussi que la rétroactivation qui caractérise leur action (plus de Na^+ entrant favorise l'ouverture de canaux supplémentaires qui favorise encore plus de Na^+ entrant, etc.) amplifie l'effet des changements qu'ils ont subi et rend comparativement négligeables les changements affectant d'autres protéines.

Depuis 2009, plusieurs études semblent d'ailleurs soutenir notre postulat de base. Par exemple, Xie 2013 a montré que l'inhibition des canaux Na_V fait cesser les rafales de potentiels d'action de même que la douleur neuropathique, Bae 2011 a conclut qu'une neuropathie liée au diabète est due à l'ischémie (qui peut détériorer les membranes et causer un CLS) et non a une hyperglycémie, etc.

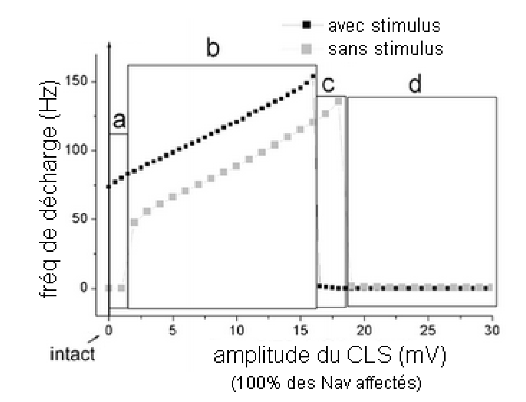
Il importe de souligner que nous postulons que les canaux K_V, eux, ne sont pas affectés. En effet, ils sont situés en périphérie des noeuds de Ranvier, là où la membrane peut difficilement former une cloque en raison de la présence de myéline. Soulignons aussi que, la cloque ne recouvrant que rarement l'entièreté de la surface d'un noeud de Ranvier, il faut s'attendre à trouver, à un même noeud de Ranvier, à la fois des canaux Na_V au comportement normal *et* des canaux Na_V ayant subi des CLS dont l'amplitude présente une distribution continue.

Effets attendus. Le CLS ayant pour effet de décaler l'entièreté du courant de fenêtre des canaux Na_V, on peut s'attendre à une variété d'effets. Le premier d'entre eux est l'afflux interne de sodium dans les cellules au repos, ce qui a déjà été démontré par les études expérimentales de Wang 2009. Mais on s'attend aussi à des changements d'excitabilité : puisque toute la cinétique des canaux Na_V subie un CLS, le seuil d'excitabilité de la membrane-cloque subi lui aussi un décalage vers la gauche. En somme, la différence entre le potentiel de repos et le seuil d'excitabilité étant amoindrie, un stimulus plus faible devrait être requis pour exciter la cellule, voire une absence de stimulus tout court. C'est pourquoi il est raisonnable de s'attendre à ce que le CLS cause des comportements ectopiques.

Un autre effet attendu concerne la durée de la phase réfractaire : dans un axone sain, immédiatement après la phase décroissante d'un potentiel d'action, quelque 90% des canaux Na_V sont inactivés. Si la courbe d'inactivation est décalée vers la gauche, alors moins de canaux Na_V seront inactivés à l'instant ou débute la phase de récupération du potentiel d'action. De même, dans un neurone sain, le courant J_{Na} est pratiquement nul pendant cette dernière phase (voir la figure 1.B3.15, au chapitre 1), alors que, dans un neurone endommagé, il devient d'autant plus grand que le CLS est important. En plus d'une faible inactivation, ce courant entrant plus important favorise un retour plus rapide de V à V_0. Pour ces deux raisons, on s'attend à une phase réfractaire d'autant plus courte que le CLS est important. En particulier, dans le cas d'un neurone ayant subi un CLS suffisamment grand pour décharger de façon ectopique, la fréquence de résonance (fréquence d'émission des potentiels d'action) devrait être d'autant plus importante que le CLS est important.

En fait, si le CLS des canaux Na_V est réellement l'explication fondamentale du comportement anormal des neurones malades, nous devrions être en mesure de prédire toutes les catégories d'observations découlant de dommages comme une lésion axonale diffuse : des activités ectopiques, des oscillations inférieures au seuil, des rafales (*bursts*) de potentiels d'action, des phénomène qui évoquent la douleur neuropathique, etc. C'est pour cette raison que le groupe de recherche auquel nous appartenons a entrepris des travaux de simulations numériques visant à étudier le comportement obtenu en cas de CLS des canaux Na_V. Nous allons maintenant revoir ces travaux numériques, ainsi que les suites qu'ils ont eu dans d'autres groupes de recherche.

Principaux résultats numériques (noeuds de Ranvier uniques). Dans un premier article portant sur des simulations numériques avec CLS des canaux Na_V (Boucher 2012), les auteurs ont d'abord modifié le modèle HH pour introduire le CLS et simulé un unique noeud de Ranvier. Les résultats obtenus confirment qu'un neurone endommagé non stimulé peut rester au repos ou, s'il est affecté par un CLS d'amplitude intermédiaire, devenir ectopique. De plus, le neurone stimulé (avec ou sans comportement ectopique) peut être hyperexcitable (décharger à une fréquence plus élevée qu'un neurone intact, en présence de l'injection d'un courant constant «de biais» utilisé comme stimulus) ou, quand le CLS est trop important, inexcitable. Ces deux paires de comportements définissent quatre états possibles, comme le montre le diagramme à droite de la **figure 3.A.10**. De plus, comme le montre la moitié gauche de la même figure, les auteurs de Boucher 2012 obtiennent que la fréquence de décharge, avec ou sans stimulation, croît de façon monotone quand l'amplitude du CLS croît, et ce pour toute la plage ce telles valeurs pour laquelle elle est non nulle. Cette observation est conforme à nos attentes au sujet de la durée de la phase réfractaire.



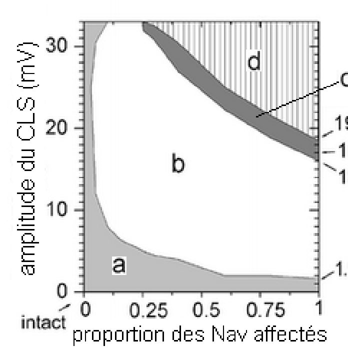


Figure 3.A.10 Régime a = pas d'activité spontanée, hypersensibilité au stimulus ; b = activité spontanée, hypersensibilité au stimulus ; c = activité spontanée, inexcitable ; d = pas d'activité spontanée, inexcitable. (Figure adaptée de Boucher 2012)

Plus loin dans Boucher 2012, le modèle est modifié de façon à permettre aux concentrations ioniques de fluctuer, des pompes Na/K étant ajoutées. Cependant, seule l'activité en l'absence de stimulation a été étudiée dans ce modèle. La présence des pompes et leur action très lente sur les concentrations ioniques (et, donc, sur E_{Na} et E_K) permet au système de modifier *lentement* son comportement. Selon l'amplitude du CLS, on observe donc cinq comportements (**figure 3.A.11**). Dans l'ordre du CLS croissant :

- pour les plus faibles CLS, le système décharge de façon transitoire et revient au repos ;
- ensuite, on obtient des rafales (*bursts*) périodiques ;
- ensuite, on obtient une période transitoire suivie d'une décharge *tonique*, c'est-à-dire périodique, sans rafales ;
- enfin, pour les CLS les plus élevés, les fuites sont tellement importantes que le système ne décharge même pas (les pompes sont alors hyperactives).
- une toute petite plage de l'espace des paramètres (en haut à droite sur la figure 3.A.11) correspond à des rafales de

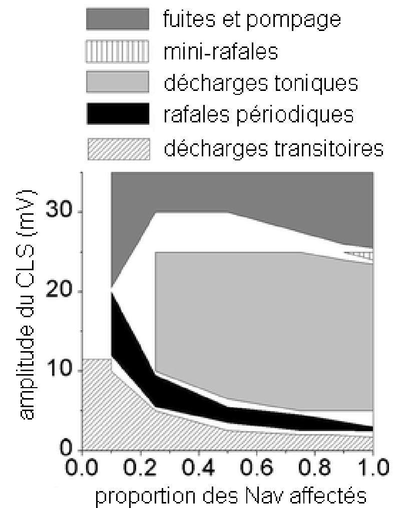


Figure 3.A.11 Cinq comportements sont obtenus, en l'absence de stimulus, selon l'amplitude du CLS qui affecte un système où les concentrations ioniques peuvent fluctuer. (Figure adaptée de Boucher 2012)

potentiels d'action de particulièrement petite amplitude.

Yu 2012 a repris le modèle avec pompes tiré de Boucher 2012, utilisé une distribution plus complexe d'amplitudes de CLS et montré que cela permet de produire des rafales périodique comme celles de Boucher 2012, mais intercalées de plus évidentes oscillations inférieures au seuil (*STOs*), exactement comme celles observées dans les modèles animaux de douleurs neuropathiques, dont nous avons parlé plus haut. Encore une fois, le modèle avec pompes n'a pas été étudié sous l'effet d'une stimulation.

Yu 2012 présente aussi un diagramme de phase similaire à celui de la figure 3.A.11, mais où deux amplitudes de CLS sont utilisées au sein du même noeud de Ranvier. Ce diagramme permet d'identifier essentiellement les mêmes zones que celles de la figure 3.A.11, mais intercalées de zones de *bistabilité* (voir appendice A). Dans ces zones, le système peut manifester deux comportements distincts, selon les valeurs initiales utilisées. Par exemple, la zone de décharge tonique et celle de repos se superposent pour former une zone où les deux comportements sont possibles. Une simulation utilisant un courant de *bruit* pour simuler les fluctuations des pompes et des canaux introduit juste assez de comportement stochastique pour faire «sauter» le système entre les deux comportements. Par exemple, dans la zone où décharge tonique et repos cohabitent, la présence de bruit permet d'obtenir des *rafales induites par le bruit*, c'est-à-dire un passage apériodique entre le repos et des rafales de potentiels d'action (**figure 3.A.12**).

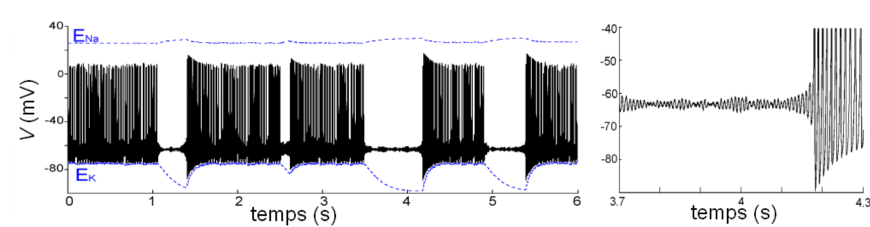


Figure 3.A.12 Quand les valeurs des paramètres placent le système dans une zone de bistabilité, du bruit permet de le faire passer d'un attracteur à l'autre. (Figure adaptée de Yu 2012)

La majorité de Yu 2012 porte sur une interprétation mathématique, utilisant les outils de la dynamique non linéaire (voir appendice A), du mécanisme permettant les allers et retours entre les épisodes de STOs et ceux de rafales : en traitant E_{Na} et E_{K} comme des paramètres, les auteurs identifient une partie de l'espace des paramètres (zone de bistabilité) où un cycle limite stable cohabite avec un point fixe stable. Pendant le système oscille à proximité du point fixe (STOs), les pompes font graduellement croître E_{Na} et le système quitte la zone de bistabilité : le point fixe perd sa stabilité dans une bifurcation de Hopf. Le seul attracteur devient donc le cycle limite : l'amplitude des STOs croît jusqu'à ce que le cycle limite soit rejoint et une rafale débute. Pendant la rafale, E_{Na} diminue et le système revient dans la zone de bistabilité. Au départ, il demeure sur le cycle limite, mais il rejoint éventuellement une zone de *doublement de période* (voir l'appendice A) et finit donc par entrer, plus ou moins au hasard, dans le bassin d'attraction du point fixe stable. Les rafales cessent et des STOs d'amplitude décroissantes apparaissent. Le scénario se répète ensuite.

Principaux résultats numériques (propagation le long de l'axone). Dans notre groupe de recherche, relativement peu de travaux ont été réalisés jusqu'à présent pour étudier l'effet du CLS sur la propagation le long d'un axone comportant ou non un mélange de noeuds

de Ranvier intacts et de noeuds de Ranvier endommagés. Yu 2012 n'aborde pas la question et Boucher 2012 y consacre environ 5 % de son article.

Dans cette partie, Boucher 2012 utilise comme nous un axone fait de dix compartiments successifs représentant chacun un noeud de Ranvier, le sixième d'entre eux manifestant un CLS et les concentrations étant fixes (aucune pompe présente non plus). Les résultats sont peu nombreux alors nous pourrons en fait une liste complète.

Premièrement, quand le CLS rend ectopique le noeud endommagé (zone b de la figure 3.A.10), il initie *en l'absence de stimulus* des potentiels d'action anormaux qui parcourent l'axone en sens inverse du noeud #6 au noeud #1. À mesure que l'amplitude du CLS croît, la fréquence de décharge du noeud ectopique augmente et les noeuds sains cessent éventuellement de pouvoir suivre, puisque leur période réfractaire est plus longue. On assiste alors à la transmission d'une proportion seulement des potentiels d'action émis par le noeud #6. De façon intéressante, à mesure que l'amplitude du CLS croît, la **figure 3.A.13** montre que la proportion en question présente des plateaux de **verrouillage de phase** qui suivent une suite de Farey (voir Feingold 1988 où ce phénomène de l'entraînement d'un système excitable par un forçage externe est étudié grâce à des oscillateurs Van der Pol ; voir aussi l'appendice A). Sur la figure, les plateaux de verrouillage de phase 1:1, 3:2 et 2:1 sont visibles et sont intercallés de légers intervalles de comportement apériodique.

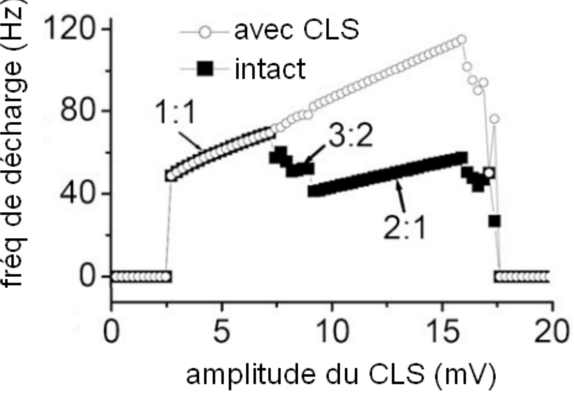


Figure 3.A.13 Quand l'amplitude du CLS croît, la fréquence du noeud endommagé («avec CLS») ne cesse de croître mais les noeuds sains («intacts») du même axone ne sont plus en mesure de suivre. Seule une proportion des potentiels d'action sont alors transmis, dans les deux sens en s'éloignant du noeud endommagé. (Figure adaptée de Boucher 2012)

Deuxièmement, Boucher 2012 a étudié l'effet d'un stimulus sur l'axone comportant un noeud de Ranvier endommagé (noeud #6). On note qu'un verrouillage de phase 1:1 se produit pour une large plage d'amplitudes de CLS : comme le montre la **figure 3.A.14**, quand la fréquence de décharge du noeud #1 excède celle qu'aurait le noeud endommagé non stimulé, la fréquence de ce dernier épouse alors celle du noeud #1 (la phase n'a pas été étudiée, seule la fréquence). En revanche, si la fréquence du noeud #1 est inférieure à celle du noeud endommagé non stimulé, ce dernier ne change pas sa fréquence et domine le comportement de l'axone : en aval, les fréquences de décharge sont identiques à

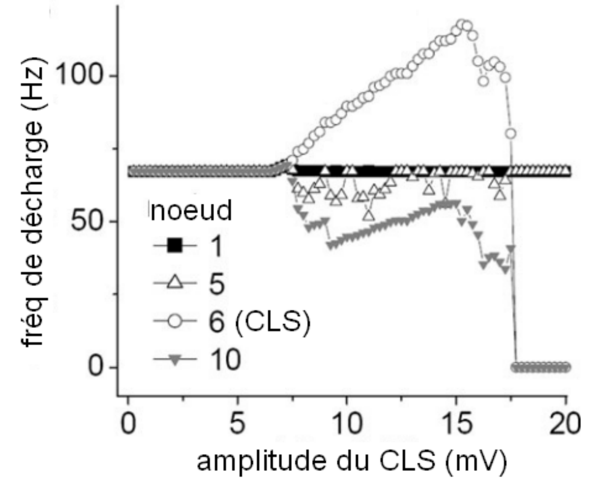


Figure 3.A.14 À gauche, le noeud #1 impose sa fréquence au noeud #6, car ce dernier déchargerait à une fréquence plus faible en l'absence de stimulus. Par contre, quand l'amplitude du CLS croît au-delà de 7 mV environ, c'est le noeud endommagé qui domine l'axone. (Figure adaptée de Boucher 2012)

celles illustrées à la figure 3.A.13 où aucune stimulation n'était présente. Ces résultats nous semblent prometteurs, mais incomplets : ils tiennent en un seul panneau de figure, aucune trace temporelle n'est illustrée dans l'article, le seul stimulus utilisé est un courant constant injecté au noeud #1 et ni pompes ni bruit n'étaient présents. Néanmoins, ce panneau de figure de Boucher 2012 a inspiré nos propres travaux, présentés au chapitre 4, qui visent notamment à combler les lacunes que nous venons d'énoncer.

Notons aussi qu'un CLS très important (zone d de la figure 3.A.10) a pour effet de bloquer complètement la propagation, comme le montre la portion droite du graphique de la figure 3.A.14 : même si un stimulus est appliqué au noeud #1, le noeud #10 ne décharge pas du tout.

De façon indépendante de nos travaux, les auteurs de Volman 2013 ont étudié l'effet du CLS sur la propagation le long d'un axone. Leur modèle comporte, comme le nôtre, des concentrations fluctuantes et des pompes. Cependant, au chapitre des résultats, ils ont étudié des aspects complètement différents de nous : ils se sont surtout attardés aux potentiels d'action individuels, soulignant que la présence d'un faible CLS à chaque noeud de Ranvier accélérait leur propagation, diminuait leur amplitude et altérait leur forme. En revanche, un CLS trop important ralentissait ou bloquait la propagation. Ils ont aussi le mérite d'être les premiers à avoir varié l'amplitude de la stimulation, mais utilisaient des impulsions carrées, de sorte que leur fréquence était toujours la même. Ils n'ont donc pas étudié l'effet de la fréquence de stimulation et pas pu remarquer le phénomène de verrouillage de phase qui est le point de départ de nos propres travaux. Soulignons cependant que l'existence d'un article, hors de notre groupe de recherche, utilisant le modèle du CLS accrédite la validité de ce dernier.

Retombées thérapeutiques. Soulignons que l'intérêt des travaux numériques que nous venons de revoir, s'ils permettent d'accréditer notre postulat fondamental voulant que le CLS soit l'explication fondamentale du comportement anormal de toute cellule excitable endommagée, est d'ensuite pouvoir guider la recherche thérapeutique, tel que décrit dans Morris 2012a : on pourrait chercher à concevoir un inhibiteur des canaux Na_V qui s'accumulerait préférentiellement dans la membrane fluide des cloques et inhiberait sélectivement les canaux Na_V situés dans les zones endommagées, le temps que ces dernières se réparent. Ainsi, en plus de sauver les neurones endommager, un tel inhibiteur minimiserait l'effet de la médication sur les neurones intacts. Une telle approche serait plus praticable que les injections localisées présentement préconisées (voir par exemple Shankarappa 2012, où on montre que la sensibilisation centrale est prévenue par l'utilisation locale de saxitoxine injectée sous forme encapsulée dans des liposomes).

À ce chapitre, un aspect devrait être mentionné : nous avons soulevé au premier bloc que la durée de vie d'une cloque émergeant dans un contexte normal est de l'ordre d'une minute. Or, les effets (CLS) mesurés par Wang 2009 étaient irréversibles même après une minute (ou, du moins, leur durée était nettement plus longue que celle de l'expérience). Nous ignorons cependant si cela signifie que les cloques causées par un traumatisme sont incapables de se résorber (comme celles observées pendant l'apoptose) ou si c'est plutôt la réorganisation des radeaux lipidiques qui prend un temps considérable après la résorption de la cloque. Néanmoins, ces aspects dépassent la portée de nos travaux.

Maintenant que nous avons fini de revoir les résultats numériques fondés sur le modèle du CLS des canaux Na_V, le lien de cause à effet entre ce décalage cinétique et l'apparition d'activité ectopique est évident. La conclusion principale de cette revue de littérature est que les cloques causés par un dommage aux cellules excitables et le décallage cinétique des canaux Na_V qui s'y trouvent peuvent *causer* des phénomènes comme l'afflux interne de Na^+, la dégénérescence secondaire et l'activité ectopique. Faire une équation entre cellule excitable endommagée et CLS des canaux Na_V est donc un modèle fonctionnel.

3.B) Questions de recherche et modélisation

Maintenant que nous avons revu la littérature expérimentale et clinique pertinente au sujet des cloques, de la douleur neuropathique et du CLS des canaux Na_V, montré les liens de cause à effet entre ces phénomènes et revu les résultats numériques fondés sur le modèle du CLS, nous sommes désormais en mesure d'aborder nos propres questions de recherche et le modèle numérique que nous utiliserons pour y répondre, ce qui est l'objet de cette section 3.B.

3.B.1 Questions de recherche

Les travaux publiés dans Boucher 2012 et Yu 2012 ont fait beaucoup pour accréditer la thèse du CLS comme mécanisme expliquant le comportement des cellules excitables endommagées, mais ils ont laissé plusieurs questions en suspend. En particulier, nous ciblons notre intérêt sur les neurones faiblement endommagés, ceux que la médecine a espoir de sauvegarder chez les patients souffrant de diverses neuropathies.

Les questions de recherche qui nous guident peuvent être groupées en deux thèmes que nous abordons dans l'article présenté au chapitre suivant :

- l'effet du CLS sur la propagation ;
- la prédiction d'une amplification douloureuse des stimuli.

Le premier thème est stimulé par le verrouillage de phase qui, bien qu'il n'y était pas discuté, pouvait être déduit d'une des figures de Boucher 2012. Supposons que des potentiels d'action «normaux» arrivent au noeud endommagé, avec une fréquence fixe, en provenance du début de l'axone : on peut se demander dans quelle mesure le verrouillage de phase permettra de transmettre ces potentiels d'action. Quelle importance relative a la période transitoire, entre la début de la stimulation et l'obtention du verrouillage ? Et une fois le verrouillage obtenu, quelle importance a la différence de phase qui subsiste s'il y a lieu ? Dans l'article du chapitre 4, nous caractérisons l'effet de l'amplitude du CLS et de la fréquence des potentiels d'action incidents sur ces deux questions. Nous testons aussi la transmission de trains complexes de potentiels d'action où la fréquence n'est pas constante et l'effet du bruit provenant des pompes et des canaux.

Le second thème est plus exploratoire. Boucher 2012 liait ses résultats à la perte de conscience immédiate qu'on observe en cas de traumatisme crânien, alors que nous souhaiterions lier les nôtres plus spécifiquement aux douleurs neuropathiques. Ces dernières sont-elles nécessairement dues aux effets de réseau que nous avons revus à la section 3.A ou peut-on obtenir dans un axone *unique* un effet qui évoque, par exemple, une amplification douloureuse d'un stimulus normalement bénin ? En cas de dommage *très léger*, comme on en trouve certainement dans les lésions axonales diffuses ou en périphérie d'un traumatisme localisé, quel effet un noeud de Ranvier hyperexcitable mais non ectopique a-t-il sur le comportement de l'axone ? Peut-il initier des phénomènes associés aux douleurs neuropathiques même si aucune ectopicité n'est initialement présente ?

Pour répondre à ces questions, nous construisons sur la base du modèle HH tel que l'ont aussi fait Boucher 2012 et Yu 2012. (À titre de référence, un résumé des principales

équations de ce modèle, tiré du chapitre 1, est présenté à nouveau à la **figure 3.B.1**.) D'ici la fin de cette section, nous apportons plusieurs précisions techniques et présentons des décisions de modélisation qui ne sont pas (ou peu) explicitées dans l'article mais ont été prises en vue de répondre aux questions de recherche ci-dessus. Les aspects traités sont la forme général du modèle, l'utilisation de concentrations non constantes, la modélisation des pompes, l'ajustement des paramètres et, enfin, la mise au point de la méthode de stimulation. Bien qu'importants, des aspects qui ne touchent pas la modélisation et sont strictement liés aux méthodes numériques (méthode d'intégration, pas temporel adaptatif, stabilité et convergence de l'algorithme, méthodes de prises de mesure, etc.) sont traités dans l'appendice C.

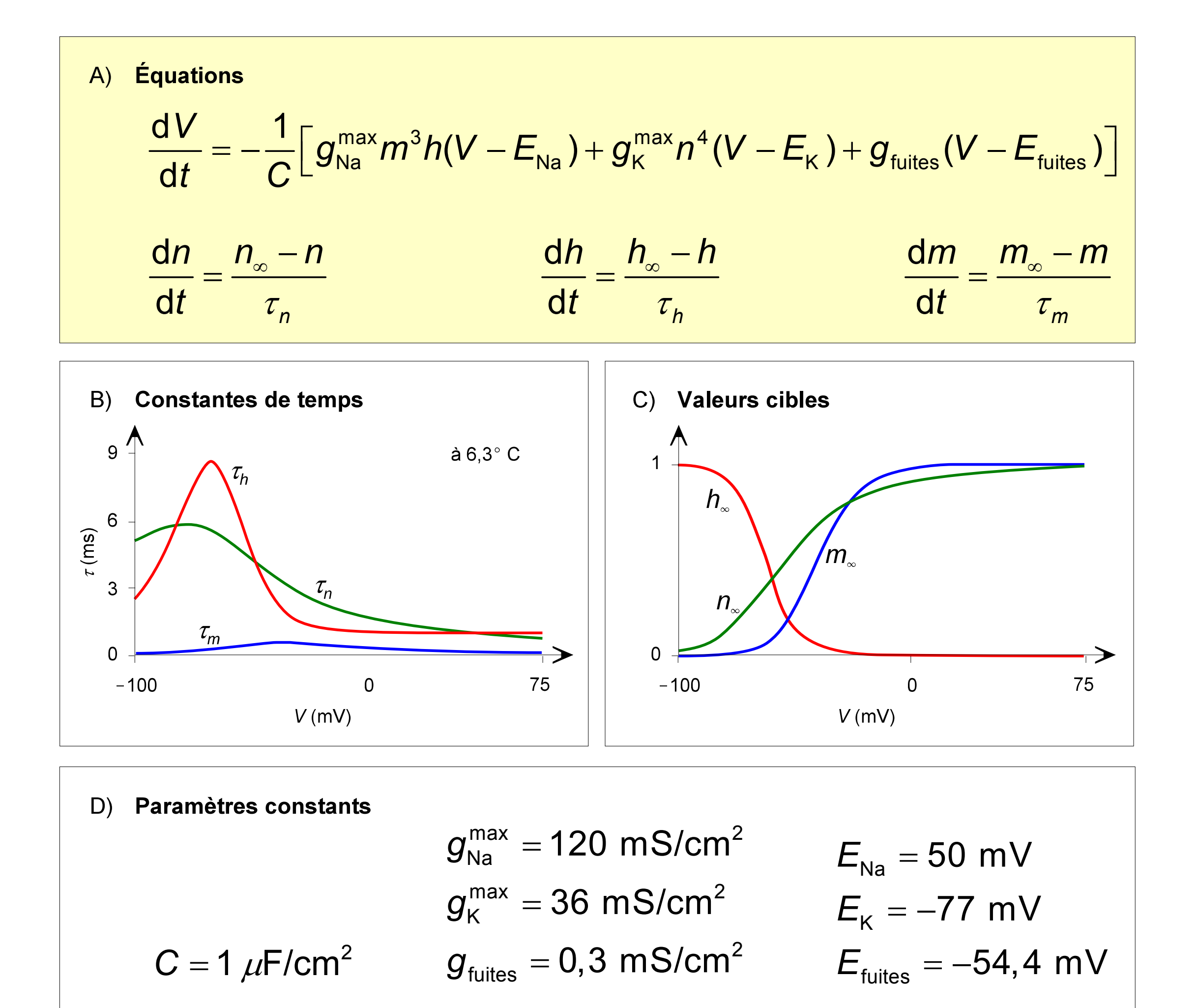


Figure 3.B.1 Récapitulation du modèle Hodgkin-Huxley pour un potentiel d'action «spaced clamped», tel que présenté dans Hodgkin 1952e (partie II).

3.B.2 Un modèle d'axone et non un modèle de membrane

Pour étudier la propagation comme nous entendons le faire, il est inutile de modéliser un neurone complet et nous nous sommes limité à concevoir un *modèle d'une portion d'axone*. Ce modèle numérique est fait, comme celui de Boucher 2012, de dix compartiments représentant dix noeuds de Ranvier. (Ce choix est justifié par un

comportement aux limites, comme nous le verrons au bloc 3.B.6.) La capacité électrique de l'internoeud myélinisé est considérée comme suffisamment faible pour qu'on puisse la négliger et relier les dix noeuds de Ranvier directement par une résistance électrique, de sorte que le modèle comporte dix compartiments *en tout*, couplés entre eux de façon linéaire. Chaque compartiment (*ie*. chaque noeud de Ranvier) est un système de six variables, V, m, h, n, $[Na]_{int}$ et $[K]_{ext}$. Les quatre premières de ces variables sont déterminées tel que décrit à la figure 3.B.1, à l'exception du fait que la première équation est remplacée par l'équation 3.B.2 que nous introduirons au bloc 3.B.4 ci-dessous et que E_{fuites} prend une valeur différente ; les deux autres sont déterminées par l'équation 3.B.3, qui suivra elle aussi sous peu. De même, la valeur au repos des quatre premières variables est choisie comme dans le modèle HH, V_0 étant fixé à −65,5 mV (comme dans Ochab-Marcinek 2009 qui utilise un modèle semblable au nôtre) et déterminant $m_0 = m_\infty(V_0)$, $h_0 = h_\infty(V_0)$ et $n_0 = n_\infty(V_0)$. Les deux autres variables sont fixées à $[Na]_{int0}$ = 20 mM et $[K]_{ext0}$ = 6 mM. (Notons que $[Na]_{int}$ + $[Na]_{ext}$ est fixé à la valeur constante de 174 mM et $[K]_{int}$ + $[K]_{ext}$, à 156 mM.)

Le premier des dix compartiments sera stimulé par une méthode que nous allons détailler au bloc 3.B.6 et qui produira un effet similaire à celui qu'auraient des potentiels d'action qui proviendrait de l'aval de l'axone. Dans le **système de contrôle** (le système intact utilisé comme point de comparaison), les neuf autres noeuds de Ranvier doivent propager fidèlement chaque potentiel d'action déchargé dans le premier noeud.

Dans le **système endommagé**, la seule différence est qu'un CLS est appliqué à un ou plusieurs des neuf noeuds de Ranvier sur lesquels aucune intervention externe n'est appliquée. Dans la plupart de nos simulations, ce sera le noeud #6, qui est au centre de cette portion de neuf noeuds. Exceptionnellement, ce sera les noeuds consécutives #5,6,7. Pour appliquer le CLS, on remplace tout simplement, au(x) noeud(s) endommagé(s), V par $V + CLS$ dans les équations pour m, h et n de la figure 1.B3.10.

3.B.3 Les concentrations ioniques : constantes ou non ?

Les travaux précédents ont démontré l'importance de tenir compte des changements de concentrations ioniques : en particulier, sans elles, aucune rafale n'est prédite. Un de nos résultats de recherche (voir la figure 4.2 au prochain chapitre) ne l'aurait pas été non plus. Par contre, utiliser des concentrations non constantes implique aussi d'insérer des pompes Na/K, ce qui complexifie le modèle.

Un bon compromis est l'idée utilisée dans Boucher 2012 : cet article compare les résultats obtenus *avec ou sans* la présence de pompes et de concentrations dépendantes du temps. Tel quel, ce choix nous paraît cependant peu judicieux : retirer les pompes du modèle équivaut à faire disparaître leur effet hyperpolarisant, donc à modifier l'excitabilité de la membrane. Nous procéderons plutôt en conservant *toujours* les pompes et les concentrations dépendantes du temps, mais en fixant le volume contenant les ions à une valeur infinie, rendant de ce fait les concentrations ioniques constantes. En d'autres termes, au lieu de comparer les résultats obtenus avec et sans pompes, nous les comparerons avec une réserve finie ou infinie d'ions. Cette approche permettra d'identifier les observations qui découlent directement de la fluctuation des concentrations, sans avoir à comparer deux systèmes dont l'excitabilité est différente.

Une approche de modélisation que nous avons écartée aurait consisté à tenir compte des concentrations dépendantes du temps seulement aux noeuds de Ranvier endommagés, un choix qui aurait été peu judicieux : implanter des concentrations non constantes nécessitant d'implanter aussi des pompes qui ont un effet hyperpolarisant dont nous avons déjà discuté, les noeuds de Ranvier sans pompes auraient donc eu une excitabilité différente des autres, ce qui aurait pu conduire à des artefacts.

3.B.4 La modélisation des pompes

Calculer le nombre d'ions par seconde échangés par la population de pompes Na/K est un sujet complexe : d'une part, les taux des liaisons et des libérations d'ions dépendent du potentiel de membrane puisque les ions doivent pénétrer jusqu'aux sites de liaison en suivant un parcours où le champ électrique transmembranaire exerce son effet. Ces processus dépendent aussi, évidemment, des concentrations ioniques. De plus, le taux d'activité de la pompe dépend de la température, notamment en raison de son effet sur les changements de conformation. Enfin, l'action de la pompe dépend de la disponibilité d'ATP. En plus de ces nombreuses dépendances, Huang 2009 met en évidence que chacune d'elles connaît d'importantes fluctuations locales : par exemple, l'ouverture d'un canal Na_V à proximité d'une pompe provoque un changement *local* de concentration, une hausse *locale* du potentiel de membrane et un gain *local* de température. Les courants générés par des pompes individuelles présentent donc des différences d'une pompe à l'autre dans une même membrane. Devant autant de paramètres, une modélisation numérique efficace requiert donc nécessairement de faire des approximations simplificatrices.

À la section 1.C, nous avons souligné que l'interaction des ions Na^+ et K^+ avec les sites de liaison sont, dans des conditions d'abondance d'ATP, les deux étapes les plus limitantes pour la vitesse de la pompe (Läuger 1991, section 8.5.4). Nous allons donc négliger l'effet de la température, un choix raisonnable puisqu'elle demeure raisonnablement constante[26], négliger l'effet du potentiel de membrane, chaque noeud de Ranvier (intact ou non) passant la grande majorité de son temps à $V \approx V_0$ même pendant une rafale de potentiels d'action, et négliger l'effet de la concentration d'ATP, typiquement abondante dans des conditions normales[27].

Quant aux concentrations ioniques, nous choisissons de ne tenir compte que des Na^+ internes et des K^+ externes. Bien que l'activité de la population des pompes dépende aussi fortement des concentrations des Na^+ externes et des K^+ internes, ces derniers ont une concentration beaucoup plus importante et donc plus constante (par exemple, le transfert de 1 mM de Na^+ change de 5 % la concentration interne, ce qui risque de produire un effet cinétique, mais n'affecte que de 0,6 % la concentration externe).

Enfin, l'effet des ions Na^+ internes et des ions K^+ externes est représenté grâce au modèle Michaelis-Menten que nous avons présenté à la section 1.A, ce qui équivaut à traiter l'action de pompage comme une réaction chimique. Le courant produit par la population

---

[26] Notons que nous avons aussi négligé l'effet de la température sur les constantes de temps du modèle HH.

[27] Nos travaux portent sur des axones endommagés, bien sûr, mais peu après l'application du dommage, l'ATP demeure abondante.

de pompes est donc :

$$J_{pmp} = J_{max} \left(\frac{[K^+]_{ext}}{[K^+]_{ext} + K_{M,K}} \right)^2 \left(\frac{[Na^+]_{int}}{[Na^+]_{int} + K_{M,Na}} \right)^3 \quad \text{(équation 3.B.1)}$$

où J_{pmp} est le courant *net* de la population de pompes. On a donc, conformément au ratio de couplage des pompes, $J_{Na,pmp} = 3J_{pmp}$ et $J_{K,pmp} = -2J_{pmp}$. Les deux derniers facteurs du membre de droite (entre parenthèses) s'évaluent chacun entre 0 et 1. Leurs exposants apparaissent en raison du nombre de sites de liaison, qu'on considère ici comme identiques entre eux ; utiliser ces exposants plutôt que des coefficients de Hill est une approximation qui semble provenir initialement de Kager 2000 et est devenu un modèle standard : elle a été reprise maintes fois depuis, notamment dans Boucher 2012 et Yu 2012 mais aussi ailleurs que dans notre groupe de recherche (voir notamment Borys 2013, Chander 2013 et Volman 2013 pour les utilisations les plus récentes).

Enfin, J_{max}, $K_{M,K}$ et $K_{M,Na}$ sont des paramètres. Ces trois constantes ont des valeurs qui varient largement d'une source expérimentale à l'autre (donc aussi d'un article de modélisation à l'autre). L'importance de ce choix est toutefois limitée dans le cadre de nos travaux, puisque la majorité des figures du chapitre 4 sont réalisées avec un courant de pompes constant, seule la figure 4.2 présentant des changements temporels. Et même dans ce dernier cas, le courant de pompes demeure du même ordre de grandeur que le courant de fuites, nettement inférieur à celui de J_{Na} et J_K ; sa valeur exacte a donc une importante toute relative, pourvu qu'elle soit non nulle et augmente vers un plateau de saturation quand les gradients de concentrations ioniques diminuent.

Nous utiliserons donc $K_{M,K}$ = 3,5 mM et $K_{M,Na}$ = 10 mM comme l'ont fait avant nous Kager 2000, Boucher 2012 et Yu 2012, notamment. Ces choix permettent de reproduire avec un accord qualitatif raisonnable des résultats expérimentaux (voir notamment Skou 1974, figure 1 ; Nakao 1989, figures 8 et 11).

Il reste donc à fixer J_{max}, qui représente la densité de pompes dans la membrane modélisée. Dans Yu 2012, ce paramètre a aussi été vu comme un facteur pouvant être ajusté à la baisse pour tenter d'illustrer les effets d'un manque d'ATP. Ce dernier choix nous semble cependant peu judicieux : si l'ATP manque, les concentrations ioniques ne dominent plus la cinétique des pompes (Laüger 1991) et l'équation 3.B.1 perd beaucoup de sa validité. Dans notre modèle, le paramètre J_{max} sera donc constant ; nous reviendrons sur sa valeur dans le bloc suivant.

3.B.5 Les fuites et les fuites spécifiques

En ajoutant le courant de pompes, l'équation du modèle HH pour V (voir figure 1.B3.10) devient :

$$\tfrac{d}{dt}V = -\tfrac{1}{C}\left[J_{Na} + J_K + J_{fuites} + J_{pmp} + J_{Na,fuites} + J_{K,fuites} \right] \quad \text{(équation 3.B.2)}$$

alors que les variations des concentrations sont déterminées par

$$\frac{d}{dt}[X]_{ext} = -\frac{d}{dt}[X]_{int} = \frac{J_X + J_{X,pmp} + J_{X,fuites}}{F}\frac{surface}{volume} \quad X = \{Na,K\} \qquad \text{(équation 3.B.3)}$$

où nous supposons par simplicité que les volumes interne et externe sont égaux, ce qui signifie que $[X]_{int}$ + $[X]_{ext}$ = constante. Dans l'équation 3.B.2, les trois premiers termes du membre de droite sont les termes habituels du modèle HH, déjà présentés à la figure 3.B.1, alors que le quatrième terme est tout simplement l'équation 3.B.1. Les termes $J_{Na,fuites}$ et $J_{K,fuites}$, aussi présents dans l'équation 3.B.3, sont définis par :

$$J_{X,fuites} = g_{X,fuites}(V - E_X) \qquad X = \{Na,K\} \qquad \text{(équation 3.B.4)}$$

où $g_{Na,fuites}$ et $g_{K,fuites}$ sont des paramètres ajustables.

Ces deux termes, appelés **fuites spécifiques**, apparaissent dans les équations 3.B.2 et 3.B.3 pour une raison technique que nous avons déjà signalée au chapitre 2 : quand $V = V_0$, les six variables du système (les V, m, h et n du modèle HH en plus de [Na] et [K] d'un côté ou de l'autre de la membrane) doivent être constantes. En d'autres termes, les équations différentielles qui les déterminent doivent alors être ajustées pour que la dérivée de chacune des six variables soit nulle. Or, la stoechiométrie des pompes impose que $J_{Na,pmp}/J_{K,pmp} = -3/2$ donc en l'absence des fuites spécifiques $J_{Na,fuites}$ et $J_{K,fuites}$, il serait impossible que l'équation 3.B.3 donne zéro à la fois pour X = Na et pour X = K, puisque J_{Na} et J_K, déterminés par l'ouverture des canaux Na_V et K_V, ne sont pas dans un rapport 1,5 et que J_{fuites} est proportionnel à $V - E_{fuites}$.

Les fuites spécifiques ne correspondent pas directement à un mécanisme physiologique réel ; dans une cellule vivante, la stabilité des concentrations de Na^+ et de K^+ au repos n'est pas due à un simple équilibre entre le courant des pompes et le courant traversant les quelques canaux tensiodépendants qui sont ouverts au repos. Ce rôle est joué aussi par de nombreux autres mécanismes : d'autres types de pompes, par exemple les échangeurs Na/Ca, les cellules gliales voisines qui absorbent l'excès de K^+, etc. Tenir compte de tous ces effets dans notre modèle serait inutilement complexe : nous souhaitons un modèle simple qui permet de mettre l'accent sur les mécanismes fondamentaux derrière les phénomènes que nous observerons.

Dans le modèle HH de base, présenté à la figure 3.B.1, il y a un seul degré de liberté : le choix de V_0 détermine le choix de E_{fuites}. Ici, J_{max}, $g_{Na,fuites}$ et $g_{K,fuites}$ forment un groupe de trois paramètres ajustables supplémentaires alors que l'équation 3.B.3 égalée à zéro (quand $V = V_0$) tant pour X = Na que pour X = K forme deux contraintes supplémentaires. En somme, un degré de liberté additionnel demeure.

Pour simplifier la modélisation, on fixe $E_{fuites} = V_0$ une valeur[28] légèrement différente de celle du modèle HH de base (voir la figure 1.B3.10). Les trois nouveaux paramètres deviennent donc indépendants de ceux du modèle de base. On peut considérer arbitrairement que le nouveau paramètre libre est J_{max}. Pour fixer ce dernier, il nous faut déterminer un critère ou une contrainte supplémentaire.

Or, une telle contrainte supplémentaire, qui n'était pas respectée chez Boucher 2012, est d'obtenir des noeuds de Ranvier dont l'excitabilité est raisonnablement comparable à l'expérience ; en particulier, le courant de biais (stimulus injecté) requis pour obtenir une réponse immédiate devrait être une fort petite proportion (de l'ordre de 1 %) du courant maximal pouvant traverser les canaux Na_V lors d'un saut de voltage clamp très dépolarisant (CE Morris, comm. pers.). Nous avons donc soumis notre modèle numérique à un saut de voltage clamp (de $V = V_0$ à V = +10 mV) et mesuré que la réponse $J_{Na}(t)$ obtenue avait un maximum d'environ 1500 μA/cm^2. Un stimulus «expérimentalement raisonnable» pour un tel système devrait donc être de l'ordre de 15 μA/cm^2. Ensuite, nous avons testé un intervalle de valeurs de J_{max} et choisi arbitrairement la valeur J_{max} = 23,65 μA/cm^2 puisqu'elle permettait d'obtenir une réponse immédiate avec un stimulus >15 μA/cm^2. (Des valeurs plus élevées de J_{max}, en raison de l'effet hyperpolarisant des pompes, rendaient nécessaire l'utilisation d'un stimulus démesuré.) Les conductances correspondantes pour les fuites spécifiques sont donc $g_{Na,fuites}$ = 0,0625 mΩ/cm^2 et $g_{K,fuites}$ = 0,0205 mΩ/cm^2. Ces valeurs sont plus proches de celles utilisées par Kager 2000 que celles trouvées dans Boucher 2012 et Yu 2012.

3.B.6 Stimulation et propagation dans le modèle d'axone

Quand une stimulation était utilisée dans les travaux précédents, il s'agissait toujours de l'injection d'un courant «de biais» constant (Boucher 2012) ou intermittent (Volman 2013). Or, un courant d'amplitude constante permettrait dans notre modèle de générer un seul type de réponse, soit une production périodique de potentiels d'action. Pour une même amplitude de courant injecté, la fréquence des potentiels d'action dans un axone intact est toujours la même.

Expérimentalement, un courant d'injection constant est la méthode de stimulation utilisée, mais ce courant est injecté dans le corps cellulaire et non dans l'axone. Or, notre modèle représente un segment d'axone et non un neurone complet. De plus, comme l'énoncent les questions de recherche énoncées au bloc 3.B.1, nous voulons caractériser globalement l'effet sur la propagation d'une zone endommagée de l'axone. Pour ce faire, il nous faut y propager des potentiels d'action périodiques à différentes fréquences et aussi y propager des trains apériodiques de potentiels d'action. Utiliser un courant constant comme stimulus est donc hors de question.

Pour produire un train de potentiels d'action se succédant à des intervalles de temps prédéfinis, il nous faut un train de stimulus appliquées aux mêmes intervalles prédéfinis et

[28] Cette valeur présente aussi un avantage pour la stabilité du modèle : quand l'un des compartiments est stimulé (par exemple, en injectant un courant ou autrement), le potentiel de membrane V change sans que les concentrations [Na] et [K] ne soient modifiées d'un côté ou de l'autre de la membrane. Il en résulte une perturbation de l'état de repos qui doit pouvoir se résorber, si la stimulation cesse, pour que le système de contrôle revienne à son point de départ. C'est ce que permet de façon efficace le choix $E_{fuites} = V_0$.

dont chacun produit une réponse immédiate. En d'autres termes, il nous faut imiter l'influx rapide et transitoire de charge qui arrive dans un noeud de Ranvier sous l'effet d'un potentiel d'action incident. Le meilleur modèle pour cela ne consiste pas à ajouter un courant constant au membre de droite de l'équation 3.B.2, mais plutôt une somme de fonctions delta de Dirac $\Delta V_{stim}\delta(t - t_{stim})$, chacune correspondant à l'instant où la décharge d'un potentiel d'action est souhaitée. L'effet d'une telle stimulation est de faire augmenter V d'une façon discontinue par un incrément ΔV_{stim}, lequel est un paramètre ajustable. En pratique, l'augmentation se fait pendant la durée d'un pas temporel du schème d'intégration (voir l'appendice C).

Il reste donc à ajuster le paramètre ΔV_{stim}, qui est proportionnel à la quantité de charge incidente à un noeud de Ranvier quand un potentiel d'action arrive. Une valeur trop faible ne serait pas suffisante pour exciter le noeud de Ranvier, alors qu'une valeur trop élevée aurait un effet démesuré, par exemple un impact sur plusieurs noeuds de Ranvier consécutifs.

Nous avons testé, pour un intervalle de fréquences, l'effet d'un intervalle de valeurs ΔV_{stim} sur un noeud de Ranvier isolé. Cela nous a permis de produire un diagramme de phase similaire à celui obtenu par Feingold 1988 dans le cas d'oscillateurs de Van der Pol et dont la phase 1:1 sera explicitée à la figure 4.1A au prochain chapitre. La notation 1:1 signifie ici qu'un potentiel d'action est déchargé pour un stimulus appliqué ; le diagramme complet présenterait une suite de Farey complète, dont les phases les plus apparentes seraient, dans l'ordre, 0:1 (à égalité avec 1:1), suivie de 1:2, suivie de 1:3 et 2:3, suivies des autres phases de dénominateurs croissants (voir l'appendice A).

De toutes ces phases, celle qui nous intéresse physiologiquement est évidemment 1:1 car elle correspond à une réponse au stimulus qui est fidèle. La valeur ΔV_{stim} = 25 mV, qui a ce comportement jusqu'à au moins 97,5 Hz, a été sélectionnée. Cette dernière fréquence devient donc la **fréquence maximale de stimulation** du modèle.

Pour s'assurer que la méthode de stimulation est valide, il faut aussi s'assurer qu'en reliant le noeud de Ranvier #1 à ses voisins grâce à une conductance κ, les potentiels d'action qu'il décharge sont tous transmis du début à la fin du reste de l'axone. Pour un stimulus d'amplitude ΔV_{stim} = 25 mV, nous avons donc comparé le nombre de potentiels d'action déchargés par le noeud #1 avec le nombre de potentiels d'action déchargés par le dernier noeud de l'axone. On obtient encore une fois une suite de Farey, dont la figure 4.1C (prochain chapitre) illustre les plages de fréquence et de conductances pour lesquelles ces fréquences correspondent. Quand on augmente le nombre de noeuds de Ranvier que contient l'axone, la frontière de cette plage tend asymptotiquement vers une limite ; comme elle devient relativement immobile pour >10 noeuds, nous avons choisi ce nombre de noeuds de Ranvier dans notre modèle. Pour un axone à dix noeuds, on observe deux phénomènes :

- Au fur et à mesure que la conductance κ augmente, la fréquence maximale produite par le noeud #1 non isolé diminue par rapport à celle produite par le même stimulus quand il était isolé. C'est normal puisqu'une partie de la charge injectée dans le noeud #1 peut désormais fuire vers les noeuds adjacents. En d'autres termes, la fréquence

maximale de stimulation du modèle est une fonction décroissante de κ.

- Quand la conductance augmente, les potentiels d'action produits dans le noeud #1 sont de plus en plus transmis : alors qu'il n'y a aucune transmission avec κ < 0,13 mS/cm^2, la fréquence maximale où les potentiels d'action sont tous transmis croît quand κ augmente et pour κ > 0,33 mS/cm^2, rejoint la fréquence maximale permettant une réponse 1:1 dans le noeud #1. En d'autres termes, la **fréquence maximale de propagation** du modèle est une fonction croissante de κ et cette fonction se confond avec la fréquence maximale de stimulation pour κ > 0,33 mS/cm^2.

La conséquence de ces observations est claire : il faut choisir 0,13 < κ < 0,33 mS/cm^2. En effet, une conductance >0,33 mS/cm^2 fait en sorte que le stimulus appliqué au noeud #1 influence directement les noeuds voisins, puisqu'on ne peut plus distinguer la fréquence maximale de stimulation et la fréquence maximale de propagation. Par ailleurs, distinguer ces deux fréquences deviendra important quand on ajoutera du CLS au modèle d'axone : sous l'effet du dommage, on s'attend à ce que l'axone endommagé manifeste des échecs de propagation (*propagation failure*), un phénomène anormal dans un axone sain et uniforme (Scott 2002). Or, pour assurer qu'on a affaire à un échec de propagation, il faut pouvoir le distinguer d'un échec de stimulation.

Nous avons donc arrêté notre choix sur κ = 0,33 mS/cm^2, ce qui permet de maximiser la fréquence maximale transmissible (85,1 Hz) tout en permettant de distinguer facilement les limites de stimulation et de propagation.

Ceci complète notre revue de littérature et la présentation des étapes de conception de notre modèle qui n'ont pas (ou peu) pu être explicitées dans l'article présenté au chapitre 4. Nous allons maintenant voir comment ce modèle a permis de répondre de façon satisfaisante à nos deux thèmes de questions de recherche.

Cette page est intentionnellement blanche.

Chapitre 4 : Article de recherche

Présentation
Ce quatrième chapitre fait suite au chapitre 3 en ce sens qu'il intéressera au premier chef le lecteur averti. Il est composé d'un article, rédigé en anglais, qui sera soumis en septembre 2013 à *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS).* La longueur des articles soumis à cette revue étant limitée, une partie du contenu est présenté, à la suite de l'article, dans la section *Supporting information*.

L'objet de l'article est de répondre aux questions de recherche que nous avons présentées au début de la section 3.B. Notons que le début de l'article reprend d'une façon succincte une partie du contenu de cette section, soit la fin du chapitre précédent.

Cette page est intentionnellement blanche.

Stimulation-induced ectopicity and propagation windows in model damaged axons

Mathieu Lachance[a,b], Catherine E. Morris[c], Na Yu[b], André Longtin[b,1], Béla Joós[b]

a. Département de physique, Cégep de l'Outaouais, 820 de la Gappe, Gatineau, Québec J8T 7T7 b. Ottawa-Carleton Physics Institute, 150 Louis Pasteur, Ottawa, Ontario K1N 6N5 c. Ottawa Hospital Research Institute, Ottawa, Ontario K1H 8M5.

Submitted to Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America

Neural tissue injuries render voltage-gated Na^+ channels (Nav) leaky, thereby altering excitability, disrupting propagation and causing neuropathic pain related ectopic activity. In both recombinant systems and native excitable membranes, membrane damage causes the kinetically-coupled activation and inactivation processes of Nav channels to undergo hyperpolarizing shifts. This damage-intensity dependent change, called coupled left-shift (CLS), yields a persistent or "subthreshold" Nav window conductance. Nodes of Ranvier simulations involving various degrees of mild CLS showed that, as the system's channel/pump fluxes attempt to re-establish ion homeostasis, the CLS elicits hyperexcitability, subthreshold oscillations and neuropathic type action potential (AP) bursts. CLS-induced intermittent propagation failure was studied in simulations of stimulated axons, but pump contributions were ignored, leaving open an important question: does mild-injury (small CLS values, pumps functioning well) render propagation-competent but still quiescent axons vulnerable to further impairments as the system attempts to cope with its normal excitatory inputs? We probe this incipient diffuse axonal injury scenario using a 10-node myelinated axon model. Fully restabilized nodes with mild damage can, we show, become ectopic signal generators ("ectopic nodes") because incoming APs stress Na^+/K^+ gradients, thereby altering spike thresholds. Comparable changes could contribute to acquired sodium channelopathies as diverse as epileptic phenomena and to the neuropathic amplification of normally benign sensory inputs. Input spike patterns, we found, propagate with good fidelity through an ectopically firing site only when their frequencies exceed the ectopic frequency. This "propagation window" is a robust phenomenon, occurring despite noise, large jitter and the presence of several consecutive ectopic nodes.

ectopicity onset | phase locking | neuropathic pain | coupled left-shift (CLS) | Nav1.6 acquired channelopathies

Whether it originates from trauma, ischemia, degenerative disease, sepsis, chemical insults or other causes, neuronal injuries lead to assorted "acquired sodium channelopathies" (e.g., 1-2). The resulting sick excitable cells manifest diverse abnormalities such as hypersensitivity (3-5), ectopicity, propagation anomalies (3,6-14) and neuropathic pain (15-19). Recently, it has been emphasized (20) that a pathological feature of sick excitable cells with acquired sodium channelopathies is bleb-type damage of the excitable (Nav-bearing) membranes. Vicious cycles involving Nav-leak (21), Na/K pump insufficiency and secondary Ca-excitotoxicity (22) are a known pathological syndrome, and bleb-type (23) damage can be seen as part of that syndrome (20), providing a plausible mechanistic explanation for Nav-leak in sick excitable cells (24-26).

Using recombinant Nav1.6 (node of Ranvier Nav isoform), Wang *et al* (24) showed, via Na^+-dye and voltage clamp experiments, that cellular trauma directly elicits TTX-sensitive Na^+-loading and that membrane aspiration (which produces bleb-damage) progressively and irreversibly causes what now is termed Nav-CLS, or "coupled left-shift" (27). With bleb damage, Nav channel activation and inactivation (availability) undergo irreversible shifts in the hyperpolarizing direction (left-shift). Given the tight kinetic coupling between fast activation and fast inactivation in Nav channels (28,29), their damage-induced shifts will have the same magnitude *LS* (24). Because the steady-state $g_{Na}(V)$ left-shifts, this corresponds to a "Nav-leak". Thus, for mild CLS, which is what interests us here, the steady-state $g_{Na}(V)$ in the healthy V_{rest} range will increase, putting ion homeostasis under stress, with the pumps continually overworked.

Previous node of Ranvier modeling established that when pumps are included in the system, mild CLS alone induces action potential (AP) bursting (27) in conjunction with subthreshold oscillations (STOs) (30). Such ectopic activity is a feature of neuropathic pain and is also seen in epileptic discharge (2,31). With ion gradients held fixed, a large CLS applied to a single node will trigger ectopic activity or block propagation (27). In those computations, *LS* was tested from zero to 30 mV; as it increased, the damaged node first became hypersensitive, then spontaneously active (ectopic) at increasing frequencies until, above a certain *LS*, the adjacent healthy nodes were unable to follow. Thereafter, only a fraction of the APs was transmitted, and plotted against *LS*, this fraction showed a sequence of plateaus (*ie*. phase-lockings), interlaced with narrow ranges of aperiodic behavior. When stimulated, the damaged axon achieved faithful transmission for small CLS but showed phase-locked propagation pattern with failures at higher *LS* values (27). These studies of saltatory conduction explored a wide range of *LS* values (0-

Significance

Propagating nerve impulses rely on Na^+/K^+ fluxes through axonal membranes. The fluxes are mediated by voltage-gated channels and restored by "Na/K pumps". With Na^+ channel leakiness typical of damaged membranes overstressing the pumps, our model axons become vulnerable to further use-dependent impairments. This could explain baffling excitability dysfunctions of mildly injured excitable cells. First, mildly damaged but quiescent axons receiving normal impulse traffic from upstream neurons can abruptly switch to generating ectopic neuropathic pain-like (or epileptiform) barrages of impulses. Second, and perhaps counter-intuitively, more intensely damaged sites firing ectopically can be dominated by incoming high-frequency impulse traffic, enabling a "propagation window" of finite lifetime; the faithful propagation of such impulse trains through a damaged zone is likely to complicate diagnosis.

Author contributions : ML, AL, CEM, NY and BJ designed research, ML performed research, ML analysed data, ML, AL, CEM and BJ wrote the paper.

The authors declare no conflits of interest.

This article is a direct PNAS submission.

[1]To whom correspondance should be addressed. E-mail : alongtin@uottawa.ca

This article contains supporting information online.

30 mV) for fixed Nernst potentials, with constant current for stimulation. Additionally, modeling excitability in the context of white matter trauma, Volman *et al* (32) incorporated Nav-CLS and found alterations in AP amplitude and propagation speed.

Here we model mildly damaged axons (mild Nav-CLS), the situation for incipient diffuse axonal injury. With Na/K pumps operational in all nodes, Nernst potentials are dynamic during saltatory AP propagation. We find that concentration changes too small to be of consequence in healthy neurons can have qualitatively important effects in damaged nodes.

Additionally, by applying periodic or variously timed AP-like (spike) input stimuli, we examine effects of Nav-CLS on AP propagation fidelity. In the case of peripheral neuropathies, these findings would apply to the early, acute phase of injury and neuropathic pain, before central and peripheral sensitization have time to occur. What abnormalities in spike count and timing are to be expected? What propagated patterns will result, and can they explain the painful amplification of normally benign stimuli? These are the research questions considered here.

Two main findings are reported: 1) mildly damaged yet quiescent axons, upon receiving normal AP traffic, are triggered into an ectopic mode; 2) although an ectopically firing site dominates axon behavior, normal AP trains of sufficiently high frequency can propagate through this site with minimal alteration. The first finding could explain some neuropathic pain phenomena. The model is presented in *Methods*. The *Results* begin with ectopicity triggering then show how high frequency spike trains propagate under various conditions.

Methods

A myelinated axon is modeled as $N = 10$ Hodgkin-Huxley-type (33) nodes of Ranvier, each an isopotential compartment with membrane voltage V_i (where i = node number), with adjacent nodes coupled by an internodal conductance κ (see Table S1). In all simulations, nodes reach an individual steady state before being connected together at $t = t_\kappa$ and stimulation at node 1, if present, begins at $t = t_{stim}$ (see Table S1). Stimulation is applied at precise times, periodically or not, in the form of delta functions, each causing a discontinuous ΔV_{stim} change of V_1. In the intact (control) model, each delta function stimulus causes the first node to fire an action potential (AP) and each AP fired by that node propagates faithfully (1:1) to all other nodes, up to a "maximum 1:1 propagation frequency" f_{max}. In the damaged model, node 6 (or nodes 5,6,7) is traumatized by applying CLS. Additional details on model design are given in the Supporting Information (SI), including explanations for choices of N, ΔV_{stim} and κ values.

Results

Ectopic activity can be triggered by stimulation. Consider an axon, unstimulated at first, including a single mildly-damaged node 6 ($0 < LS < 3.5$ mV), all simulations beginning with E_{Na}, E_K, V, m, h and n at their LS = 0 rest state. For this LS range, no ectopic activity occurs, the CLS-induced Nav channels leaks being small enough that pumps are able to keep up and the system simply settles to a new rest state (slightly depolarized compared to the healthy axon's). However, stimulation can *trigger* ectopic behavior, as seen in Fig. 1*a* for $LS = 3$ mV: apart from a small increase in speed through node 6, the six first APs propagate normally. If stimulation stopped after the fifth AP, the system would return to quiescence, but the sixth AP triggers ectopic behavior (asterisks, Fig. 1*a*). After this onset, retropropagated APs initiated in node 6 collide with "normal" incoming APs and cancel them, resulting in complex wave fronts in the first half of the axon and complete domination of the damaged node over the second half. When stimulation ends, ectopic activity persists until dozens of APs have fired and gradient rundown renders the system unexcitable ($t \approx 2000$ ms). Na/K pumps then slowly bring it back to its initial quiescent state.

This onset of ectopicity can be understood from the fact that, at a sufficiently high propagation frequency, APs deplete ionic gradients faster than Na/K pumps can restore them, so all nodes run down at similar rates (see E_{Na} and E_K on Fig. S1). Further, with a diminished

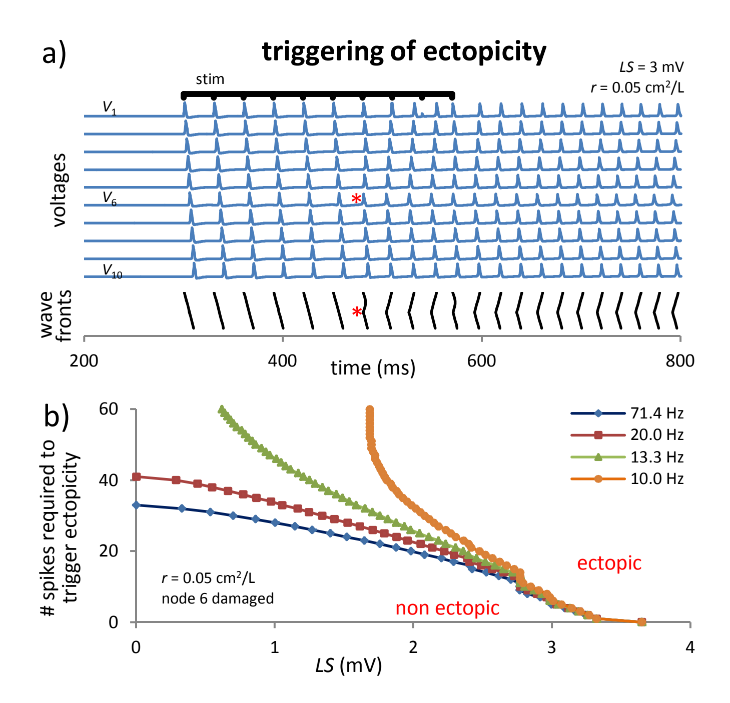


Fig. 1. Triggering of ectopic activity. (a) Mildly damaged (LS = 3 mV) node 6 remains non ectopic if 5 APs or less are propagated, but becomes subtly but distinctly ectopic otherwise (asterisks); note the wave fronts shape change. Stimulation is applied 10 times, every 30 ms, starting at t_{stim} = 300 ms. Wave fronts are drawn by connecting maxima of corresponding APs in adjacent nodes. (b) Minimal number of APs required to trigger ectopicity. Curves are notably fstim-dependent only for low f_{stim} and large number of APs (because Na/K pump action between spikes is then consequential). Note that our model, with r = 0.05 cm^2/liter, becomes ectopic even in the healthy (control) system, if f_{stim} is sufficiently high. See also Fig. S2 and Fig. S3.

initial E_K (Fig. S2), the system shows periodic ectopic firing *with no* stimulation (30).

For an intact postsynaptic neuron, the consequence of stimulation-triggered ectopicity in the pre-synaptic neuron would be the arrival of ≈90 additional APs, beyond the 6 delivered by an intact pre-synaptic neuron in the illustrated case. This induced ectopic behavior could thus "amplify" a stimulus; occuring in an algoneuron, the brain could interpret a minor stimulus as pain (34).

The onset of ectopic activity due to normal AP traffic would take a long time for mildly damaged axons, because the ectopicity-triggering number of spikes (only six in Fig. 1*a*) would then be high. Fig. 1*b* shows this number as a function of LS for a few stimulation frequencies. The same occurs when three consecutive nodes (5-7) are damaged; the graph is then qualitatively identical to Fig. 1*b*, apart from a small horizontal compression towards smaller LS values (Fig. S3). Ectopicity was detected when the total number of APs reaching node 10 at all $t > t_{stim}$ was different in the control and damaged systems. The number of spikes propagated is the main determinant for the onset of ectopicity: for all $LS > 2.5$ mV and all $f_{stim} > 20$ Hz, this ectopicity-triggering number of spikes depends on LS alone. It appears to also depend on frequency, but only when $f_{stim} < 20$ Hz and LS is low, because Na/K pumps then have some time to partially replenish gradients between successive APs.

High frequency periodic stimulation can drive the ectopic node(s). We now consider axons where the damaged node(s) exhibits spontaneous ectopic firing (3.75 mV $< LS < 10.75$ mV). We will show that propagation can still be achieved by overriding the ectopic site. Stimulation is periodic unless otherwise specified. Below, f_Q denotes the ectopic firing frequency or "resonant frequency" of damaged

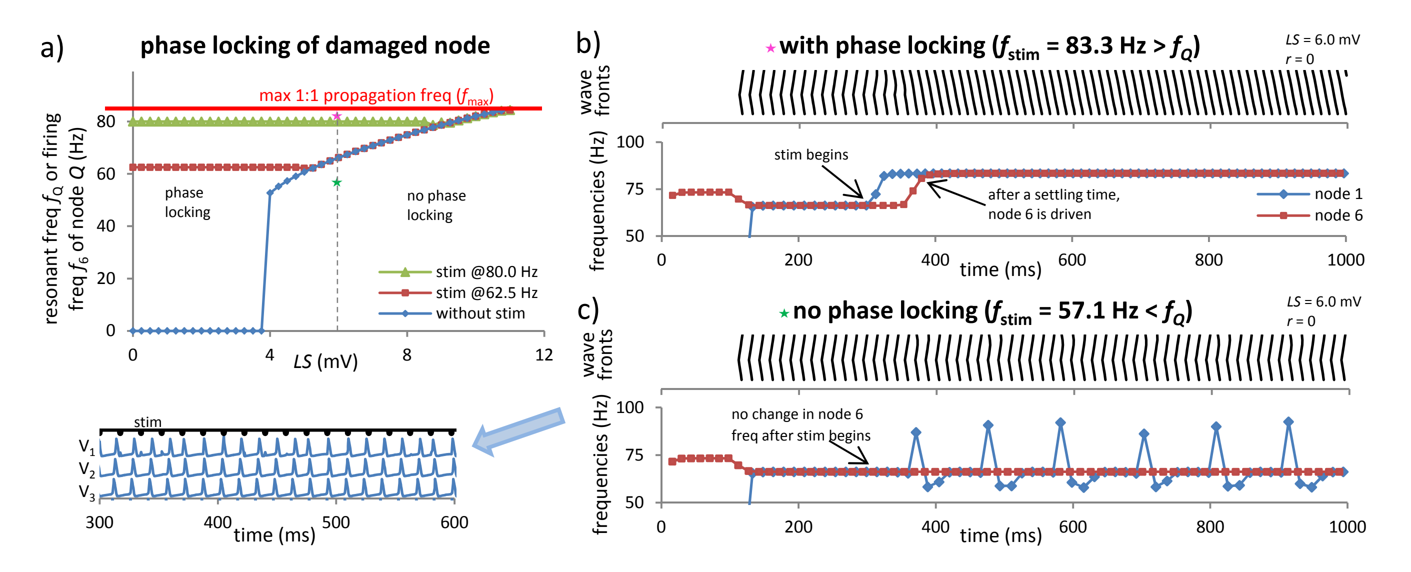


Fig. 2. Phase locking of damaged node. (a) Steady-state damaged node frequency as function of LS. Blue: ectopic frequency f_Q (without stim); dark red and green: frequency f_6 (with stim). Note that $f_6 = f_{stim}$ when $f_Q < f_{stim}$ but that $f_6 = f_Q$ when $f_Q > f_{stim}$; for $f_6 = f_{stim}$, all retropropagation has stopped. Phase locking occurs above the blue curve only. Thus, high frequency AP trains propagate despite the ectopic site. Purple / green stars correspond to (b) and (c). (b) Wave front and time-dependent frequencies f_1 and f_6 when LS = 6 mV (f_Q = 66.2 Hz) and $f_{stim} > f_Q$. Note the settling time required for f_6 to become equal to f_{stim}. (c) Same as (b), with $f_{stim} < f_Q$. Note that f_6 never changes after t_{stim}. Inset : nodes 1-3 show the interplay of input APs with retropropagated APs. Note how some of the latter reach node 1 and cause a stimulation failure (absence of AP fired in node 1 at the time of some stimulations), as in Fig. 1*a*.

node 6 in the unstimulated axon, and f_6 its frequency when stimulated. When LS > 3.75 mV (Fig. 2*a*, blue curve), ectopic firing occurs spontaneously and frequency f_Q increases monotonically as a function of LS.

With no stimulation, the ectopic APs originating in damaged node 6 propagate forward and backward (see both Fig. 2*b* and Fig. 2*c* before stimulation begins). With stimulation, f_6 can differ from its unstimulated value f_Q, as the two sources of APs (nodes 1 and 6), compete to stimulate the other nodes. When $f_{stim} > f_Q$, complex interplays take place in nodes 1-6. Eventually, however, retropropagation stops and 1:1 phase locking occurs with $f_6 = f_{stim}$ (Fig. 2*a*, right part of green and dark red curves; see also Fig. 2*b*).

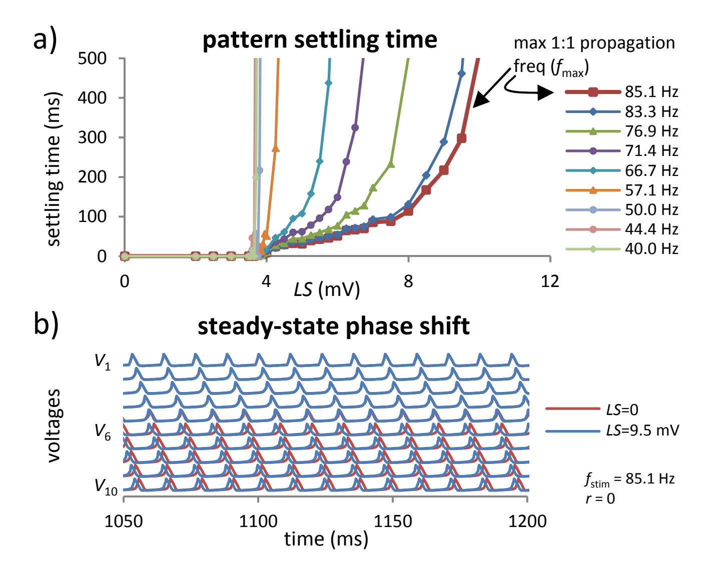


Fig. 3. The two effects contributing to output infidelity when $f_{stim} > f_Q$. (a) Settling time increases with LS and decreases with f_{stim}. Note also that for $f_{stim} < f_Q$, settling time tends to infinity. Procedures used to generate (a) are detailed in the SI. (b) Voltage traces (after settling time) of intact and damaged (LS = 9.5 mV, for which f_Q = 80.4 Hz) axons with same stimulation. Note the phase shift.

When $f_{stim} < f_Q$, retropropagation never stops and the damaged node dominates the axon's output. This output, at frequency f_Q, shows no f_{stim}-dependence. Furthermore, no anterograde AP originating in node 1 can reach node 10, since these collide and annihilate with retrograde APs from node 6 (Fig. 2*a*, left part of green and dark red curves; see also Fig. 2*c*). Note that 1:1 phase locking becomes unachievable if f_Q exceeds the maximum propagation frequency f_{max} of the axon (LS > 10.75 mV on Fig. 2*a*).

When stimulating with $f_{stim} > f_Q$, f_6 does not instantaneously switch from f_Q to f_{stim}. Rather, a long "settling time" is required, during which APs from node 1 still collide with the retropropagating APs from node 6. Successive collisions occur further down the axon until the collision point reaches the damaged node, which is thenceforth driven at f_{stim} (Fig. 2*b*). Under those conditions, the output frequency at node 10 is determined by the stimulus at node 1, as if it were an intact axon, but with a phase shift.

The situation is entirely different when $f_{stim} < f_Q$: the ectopic node fully dominates the output of the axon (Fig. 2*c*). The firing frequency of node 6 does not change after stimulation begins, while node 1 fires erratically. This means that APs in nodes 7 to 10 originated in the damaged node and are completely independent from the stimulus at node 1.

Sources of input-output disruption under phase locking conditions. When $f_{stim} > f_Q$, the steady-state frequency is identical to the control system's but there are, nevertheless, differences between output spike trains in the control and damaged cases. As seen in Fig. 3*a*, there is a non zero settling time, during which output APs in the control and damaged systems differ. Further, there is a phase shift (Fig. 3*b*). The combined effect of these two phenomena causes output infidelity which we define below.

Fig. 3*a* shows that with increased LS and with reduced f_{stim}, settling times become longer (recall that increasing LS elevates f_Q). The long settling times are linked to the more robust ectopic firing at such increased f_Q. The ectopic node thus generates more retropropagated APs that need to be annihilated by input APs before steady-state 1:1 phase locking is achieved. Further, for a given LS, the

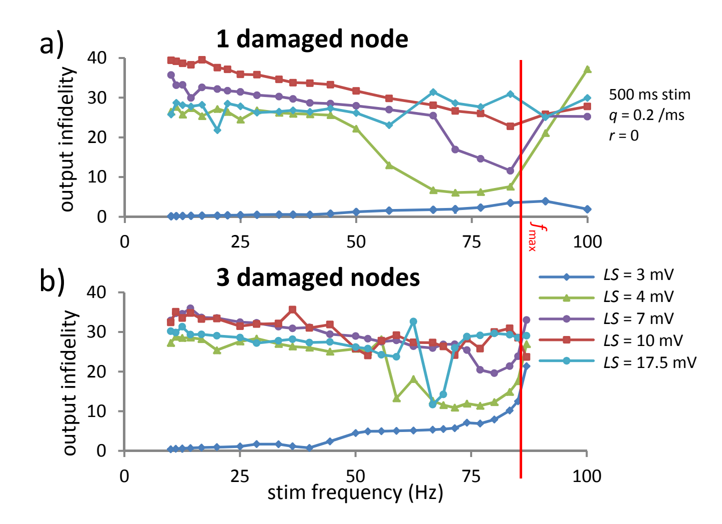


Fig. 4. Propagation window. (a) Output infidelity as a function of f_{stim}, evaluated with $q = 0.2\ \text{ms}^{-1}$ for tÎ [310.8, 810.8] ms, i.e. interval between first and last spikes in the control system's output. Note the wide minimum occurring in a band of large frequencies. This "propagation window" corresponds to $f_{\text{stim}} > f_Q$ cases. (b) Same with CLS affecting nodes 5-7 instead of only node 6. Note that the propagation window still occurs, even though it's less contrasted. Both panels include non physiologically relevant points ($f_{\text{stim}} > 85.1$ Hz) to show that ectopic node(s) dominates the axon again when propagation failure starts occurring.

settling time decreases with increasing f_{stim}, reaching its minimal value for $f_{\text{stim}} = f_{\max}$, the maximum 1:1 propagation frequency (see Fig. 2 and Fig. S1*c*). Thus, the settling time can never be zero. During settling time, output spike trains from control and damaged systems can differ significantly.

The phase difference between the outputs of the control and damaged systems (also an increasing function of *LS*) is mostly due to the altered excitability of node 6, resulting in locally accelerated propagation; but it also results from the interplay occurring between nodes 1 and 6. Close inspection reveals that, for the illustrated *LS* value, the damaged node fires before the incoming AP reaches it (Fig. 3*b*). This shows that the phase locking is not a local phenomenon; it involves the interplay of all nodes up to the damaged one.

A "propagation window" where output infidelity is minimal. A quantitative evaluation of output infidelity requires taking both settling time and phase shift into account. To do so, we generated "output spike trains" (i.e. list of times when maxima of APs occur at node 10) for the damaged and control system fed the same input, and we compared them using the "VP distance" (i.e. the cost-based metric introduced in (35)). The VP distance is the *minimal* "cost" of transforming a spike train into another; if adding or removing a spike is assigned an arbitrary unitary cost while shifting a spike by Δt costs $q\Delta t$. Details and an example are given in SI (see Fig. S4). Note how q, an arbitrary parameter with units of cost per ms, weighs the importance given to shifts in spike timings relative to changes in spike count. Physiologically, this q parameter could therefore indicate the resolution of a postsynaptic neuron acting as a coincidence detector: when $q\Delta t$ is very low, a spike shifted by Δt could still be detected as coincident with a spike received from another neuron; otherwise, the two spikes would be considered independent. In extreme cases, when $q = 0$, the VP distance equals the difference in spike count, while for large q, it equals the sum of both spike counts. This VP distance will hereafter be called "output infidelity": the higher it is, the more different the two compared spike trains. Note that its use is not restricted to periodic patterns.

The effect of *LS* and f_{stim} on output infidelity was investigated. Periodic stimulation was applied for $t \in [300, 800]$ ms. Since 1.2 ms per internode was allowed for propagation, and there are 9 internodes, output trains were compared for $t \in [310.8, 810.8]$ ms. Thus, the calculation of output infidelity includes the settling time but not ectopic spikes fired before/after the stimulation period. Figs. 4-6 used 500 ms of stimulation and $q = 0.2\ \text{ms}^{-1}$ (see Table S1), and results are independent of these choices (Fig. S5). Fig. 4*a* plots output infidelity as a function of f_{stim}. When *LS* = 3 mV (for which no ectopic firing occurs, see Fig. 2*a*), output infidelity is nearly zero; spike trains propagate faithfully regardless of their frequency. Then over a range of *LS* values (3.75 mV < *LS* <10.75 mV) and $f_{\text{stim}} > f_Q$ there is still 1:1 phase locking after a settling time (see Fig. 2 and Fig. 3). One therefore expects faithful propagation in a "propagation window" $f_Q < f_{\text{stim}} < f_{\max}$ (Fig. 4*a*). At the lowest end of the above *LS* interval, this window is at its widest (because f_Q is the smallest) and its deepest (because the settling time is at its shortest).

In vivo stretched axons would incur damage over several nodes. Fig. 4*b*, drawn with nodes 5-7 damaged, shows that a propagation window should still be expected in such situations. Note that replicating the damage over three nodes does not triple the infidelity in the propagation window, but barely increases it.

Increased axoplasmic conductance counteracts ectopicity. An axon traumatized *in vivo* is expected to swell in reaction to trauma and to shrink due to its secondary degeneration (36-38). We modeled swelling (shrinking) as a local κ increase (decrease), affecting the internodes located each side of the damaged node. Fig. 5 shows results for *LS* = 4 mV (see Fig. S6 for other *LS* values): local swelling widens the propagation window, at least for the mildest damages, while local shrinking leads to opposite results.

These results follow from two mechanisms: 1) the local κ increase corresponds to an increased coupling between nodes 5 and 6, which reduces the phase shift described in Fig. 3*b*; 2) the settling time is also reduced. The latter results from a new ectopic frequency f_Q' which is reduced from f_Q, due to the local κ increase (see red star on 150% curve in Fig. 5 with propagation window $f_{\text{stim}} \geq 50\ \text{Hz} \approx f_Q'$, while Fig. 2*a* shows $f_Q \approx 53$ Hz for the same *LS*). This change in f_Q occurs because a larger part of the charge leaking through Nav channels flows to neighboring nodes, making it harder to reach threshold in the damaged node.

Propagation window affected oppositely by stimulation jitter and weak dynamic noise. So far, we used deterministic, periodic stimulation. We will now investigate two stochastic effects likely to appear *in vivo*: jitter in the stimulation timing (e.g., due to variability in AP generation upstream of the system's first node) and noise in the transmembrane currents (e.g., caused by stochastic behavior of the voltage-gated channels). The procedures used to simulate jitter and noise are

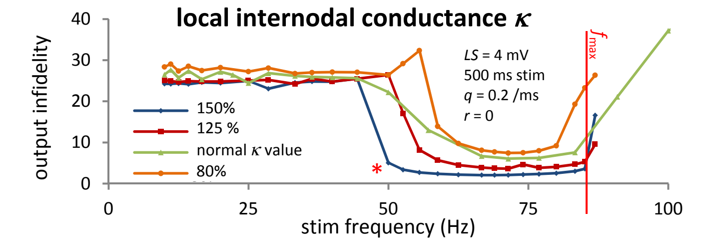


Fig. 5. Local increase of internodal conductance reduces infidelity. The *LS* = 4 mV curve from Fig. 4*a* is called "normal" here; other curves use the same parameters, except κ' (respectively 0.24, 0.375 and 0.45 mS/cm² for the 3 new curves) is used instead of κ between nodes 5-6 and 6-7; κ remains at 0.3 mS/cm² for all other internodes. See also Fig. S6.

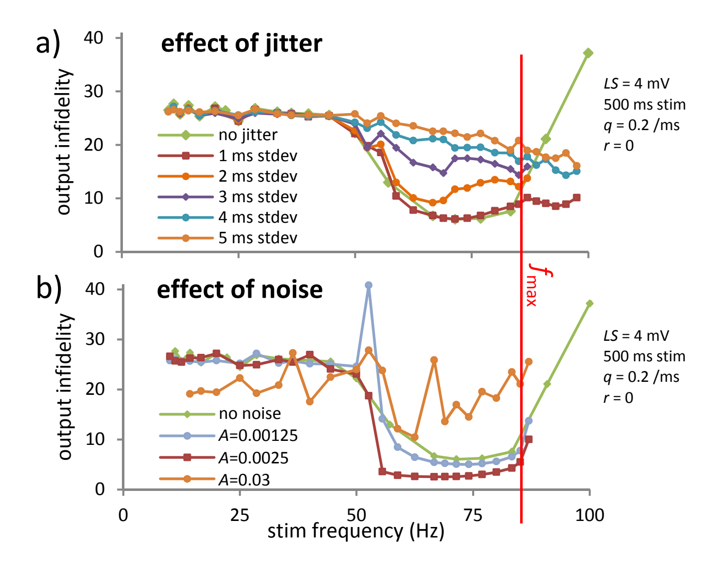


Fig. 6. Effects of stochasticity. (a) Indidelity as a function of fstim for increasing stimulation jitter at node 1. The Gaussian jitter has zero mean and standard deviations as listed. (b) Infidelity as a function of fstim with dynamic current noise modeled as Gaussian white noises added independently in Eq. S1 for all nodes (see SI).

described in the SI. Here, $LS = 4$ mV so that curves can be compared with the deterministic result (green curve in Fig. 4*a*, reproduced here). Examples of jittered and noisy time series are shown in Fig. S7.

As shown on Fig. 6*a*, the mildest jitter (standard deviation = 1 ms) has a negligible effect on infidelity. However, increasing the jitter further increases infidelity in the propagation window, eventually destroying the window completely. Dynamic noise has richer effects: while strong noise obliterates the propagation window, weak noise ($A < 0.015$; two curves on Fig. 6*b*) does the opposite: it improves the propagation band. This is a novel instance of "noise-assisted propagation" based on stochastic resonance (39,40), here in a pathological context.

Ionic gradient depletion gives propagation window a finite lifetime. Simulations in the ectopic regime reported in Figs. 2-6 were run with E_{Na} and E_K fixed at healthy values (implemented by using a zero surface to volume ratio, *r*). This simplification allowed for a steady state with a fixed f_Q after a settling time, letting us examine propagation fidelity as a function of parameters characterizing damaged axons. However in reality the surface to volume ratio is non zero. In Fig. S8, the curves shown in Fig. 4*a* for the output infidelity as a function of f_{stim} are redrawn with $r = 0.05$ cm^2/liter, a high value chosen specifically to illustrate, in a reasonable simulation time, the importance of finite volumes. With this value, the propagation window disappears within a few hundred ms. This indicates that 1:1 phase locking has been lost. This lost results from the gradual increase of f_Q associated with the diminishing E_K values (see Fig. S2), with 1:1 phase locking being lost once the condition, $f_{stim} > f_Q$, is no longer respected. Since nothing stops f_Q from increasing beyond f_{max}, recurrent transitory propagation windows can be expected in real axons for the duration of time when the Na/K pumps are unable to maintain E_K.

Thus the propagation window found under constant reversal potentials has a finite *r*-dependent lifetime. In other words only a stimulus of finite duration can be transmitted; for ongoing stimulation, the propagation window will appear and disappear via an interplay of stimulus and gradient depletion/recovery time scales.

Discussion

Nerve damage and its connection to neuropathic pain and its complications are under intense scrutiny. A model of incipient mild nerve injury provides fertile ground to study a host of pain-related phenomena, including allodynia-like amplification of normally benign stimuli. Here, we have studied the interaction of a stimulated node and a one- or three-node damaged zone in a mildly-damaged axon.

Damage was modeled as an irreversible coupled left-shift (CLS) of activation and inactivation processes in the Nav channels, a form of Nav-leak that a growing body of evidence links to mechanical or chemical injuries in various types of excitable cells (24,41,42; see also 43). Depending on the magnitude of *LS*, two behaviors were observed: either the unstimulated system settled to a fixed point or its damaged node immediately exhibited periodic ectopic firing. There were no situations where it started firing ectopically only after a delay.

These two dynamical behaviors underlie our two main findings observed in the presence of pulsatile (AP-like) stimulation. Firstly, we showed that a mildly-damaged node of Ranvier, below the range of *LS* values that lead to ectopic firing in the absence of stimulation, can switch behavior and become an ectopic site once the K^+ concentration gradient is sufficiently depleted (Fig. 1). This resembles an afterdischarge (44) but occurs before the end of the stimulus. This result provides a mechanism by which a small stimulus (normally causing 6 APs in the case illustrated on Fig. 1*a*) triggers ectopicity and causes the axon to fire dozens of APs. The postsynaptic neuron would respond as if the stimulus was much greater than it is in reality. If such a phenomenon occurs in a sensory neuron, it could be responsible for painful amplification of normally benign stimuli, typical of clinically observed conditions like allodynia or hyperalgesia (18).

This result is consistent with observations showing that changes in gene expression are insufficient to cause neuropathic pain, that abberrant Nav activity alone can lead to allodynia, and that blocking Nav channels in animal models is neuroprotective and delays the onset of neuropathic pain (45). Our model predicts that the onset of ectopicity can occur not long after the damage, and still occur as long as the neuron lives. Therefore, it can be compared with observations done both before and after central sensitization takes place. In the latter case, it could explain why some patients' tactile allodynia needs to be set off by scratching or some other stimuli (46)

Extending the damage to three adjacent nodes shifts the onset of ectopicity towards lower *LS* values (see Fig. S3, an extension of Fig. 1*b*). It has no other noticeable effect on the phenomenon reported here, which should therefore be expected in experiments despite the method used to damage the axon and the physical extent of the trauma produced (as long as it remains mild enough). We should also note that, according to Fig. 1*b*, a large decline of E_K should trigger ectopicity even in an intact axon, as V_{rest} depolarizes towards threshold (see also 47,48). This occurs sooner in damaged nodes because threshold is hyperpolarized by the CLS-induced window conductance shift. Thus, even though we are dealing with a "sodium leak", E_K plays a fundamental role in the excitability dysfunction.

Our second finding concerns the possibility of spike train propagation despite the presence of an ectopic site: while the ectopic node of Ranvier sends APs in both directions in a non-stimulated axon, high frequency stimulation (i.e., higher than the ectopic rate) can enslave the ectopic site by causing it to become phase locked to the incoming signal, a phenomenon similar to behaviors seen in damaged sciatic nerve (49). Once the short transient period necessary to overcome retropropagating APs passes, the incoming spike train is transmitted with minimal alteration. Note that this occurs in the same way regardless of whether the ectopicity was spontaneous or triggered by stimulation. Interestingly, these results imply that neurons that typically fire at high frequency should be less affected by CLS-type

damage. Additionally, this faithful high frequency propagation could mask unhealthy dynamics, emphasising the need to test the frequency dependence of excitability in neurodiagnostic techniques such as threshold tracking (50).

It is important to note that our model as constructed (notably with $r = 0.05$ cm^2/L) will see its gradients depleted when firing occurs over an extended period of time, whether in the healthy (Fig. S1*d*) or damaged state (Fig. S9*b*): as Fig. 1*b* shows for $LS = 0$, the healthy system becomes ectopic if $f_{stim} \geq 20$ Hz, revealing sufficient E_K depletion, but keeps firing continuously with a steady state reversal potentials if $f_{stim} \leq 13.3$ Hz. Our results indicate that the propagation window will eventually disappear because of the depletion of the gradients (this was done here in an exaggerated manner by choosing a large ratio r). Nevertheless a stream of temporally segregated stimuli such as bursts generated at the soma would have a higher likelihood of propagation due the recovery of the gradients during the pauses. One wonders whether there may be a link between these depletion recovery dynamics and the "shooting pain"-type perception of neuropathic stimuli coming in waves (eg. 51).

This "frequency window" of reliable propagation, where ectopicity is overridden, is a robust phenomenon that should be expected in experiments. Indeed, it still occurs when there are a few consecutive ectopic nodes (Fig. 4*b*), it resists high levels of jitter in the incoming train (Fig. 6*a*) and it is even fortified by mild levels of noise in the channel currents (Fig. 6*b*) through a stochastic resonance effect. In the presence of sustained high frequency input, the 1:1 phase locking of the ectopic site can only be lost if E_K becomes strongly diminished (Fig. S9). This robust prediction can also lead to a reinterpretation of clinical observations that might have been overlooked. One might conjecture that some behaviors (eg. frenetic scratching or other intense stimulus) practiced by people with tactile allodynia elicit high frequency firing in affected neurons; this firing phase locks 1:1 and produces an expected, and thus normal-feeling, sensation.

We should finally stress that our results are expected to be generally applicable to all neurons. All frequencies and results covered in this article are "scalable" if the model parameters are adjusted. In other words, onset of ectopicity or a propagation window should both be expected in all axons whatever their maximum frequencies are.

Acknowledgments

ML thanks PA Boucher for useful discussions. BJ and AL acknowledge NSERC (Canada) support, and CEM from OHRI.

1.Novak KR, Nardelli P, Cope TC, Filatov G, Glass JD, Khan J, Rich MM (2009) Inactivation of sodium channels underlies reversible neuropathy during critical illness in rats. *J Clin Invest* 119(5):1150.
2. Bialer M (2012) Why are antiepileptic drugs used for nonepileptic conditions? *Epilepsia* 53(s7):26-33.
3. Greer JE, Povlishock JT, Jacobs KM (2012) Electrophysiological abnormalities in both axotomized and nonaxotomized pyramidal neurons following mild traumatic brain injury. *J Neurosci* 32(19):6682-6687.
4. Kocsis JD, Devor M (2000) Altered excitability of large-diameter cutaneous afferents following nerve injury: consequences for chronic pain. *Progress in Pain Research and Management* 16:119-136.
5. Liu CN, Wall PD, Ben-Dor E, Michaelis M, Amir R, Devor M (2000) Tactile allodynia in the absence of C-fiber activation: altered firing properties of DRG neurons following spinal nerve injury. *Pain* 85(3):503-521.
6. Kajander KC, Bennett GJ (1992) Onset of a painful peripheral neuropathy in rat: a partial and differential deafferentation and spontaneous discharge in A beta and A delta primary afferent neurons. *J Neurophysiol* 68(3):734-744.
7. Sheen K, Chung JM (1993) Signs of neuropathic pain depend on signals from injured nerve fibers in a rat model. *Brain Res* 610(1):62-68.
8. Tal M, Wall PD, Devor M (1999) Myelinated afferent fiber types that become spontaneously active and mechanosensitive following nerve transection in the rat. *Brain Res* 824(2):218-223.
9. Liu X, Eschenfelder S, Blenk KH, Jänig W, Häbler HJ (2000) Spontaneous activity of axotomized afferent neurons after L5 spinal nerve injury in rats. *Pain* 84(2):309-318.
10. Liu CN, Michaelis M, Amir R, Devor M (2000) Spinal nerve injury enhances subthreshold membrane potential oscillations in DRG neurons: relation to neuropathic pain. *J Neurophysiol* 84(1):205-215.
11. Chul Han H, Hyun Lee D, Mo Chung J (2000) Characteristics of ectopic discharges in a rat neuropathic pain model. *Pain*, 84(2):253-261.
12. Liu CN, Devor M, Waxman SG, Kocsis JD (2002) Subthreshold oscillations induced by spinal nerve injury in dissociated muscle and cutaneous afferents of mouse DRG *J Neurophysiol* 87(4):2009-2017.
13. Amir R, Michaelis M, Devor M (2002) Burst discharge in primary sensory neurons: triggered by subthreshold oscillations, maintained by depolarizing afterpotentials *J Neurosci* 22(3):1187-1198.
14. Ma C, LaMotte RH (2007) Multiple sites for generation of ectopic spontaneous activity in neurons of the chronically compressed dorsal root ganglion. *J Neurosci* 27(51):14059-14068.
15. Coutaux A, Adam F, Willer JC, Le Bars D (2005) Hyperalgesia and allodynia: peripheral mechanisms. *Joint Bone Spine* 72(5) :359-371.
16. Truini A, Cruccu G (2006) Pathophysiological mechanisms of neuropathic pain. Neurol Sci, 27(2):s179-s182.
17. Fazen LE, Ringkamp M (2007) The pathophysiology of neuropathic pain: a review of current research and hypotheses. *Neurosurgery Quarterly* 17(4):245-262.
18. Costigan M, Scholz J, Woolf CJ (2009) Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. *Annu Rev Neurosci* 32:1.
19. Nickel FT, Seifert F, Lanz S, Maihöfner C (2012) Mechanisms of neuropathic pain. *Eur Neuropsychopharmacol* 22(2):81-91.
20. Morris CE, Boucher PA, Joós B (2012) Left-shifted Nav channels in injured bilayer: primary targets for neuroprotective Nav antagonists? *Frontiers Pharmacol* 3:19.
21. Wolf JA, Stys PK, Lusardi T, Meaney D, Smith DH (2001) Traumatic axonal injury induces calcium influx modulated by tetrodotoxin-sensitive sodium channels. *J Neurosci* 21(6):1923-1930.
22. Schafer DP, Jha S, Liu F, Akella T, McCullough LD, Rasband MN (2009) Disruption of the axon initial segment cytoskeleton is a new mechanism for neuronal injury. *J Neurosci* 29(42):13242-13254.
23. Dinic J, Ashrafzadeh P, Parmryd I (2012) Actin filaments attachment at the plasma membrane in live cells cause the formation of ordered lipid domains.*Biochim Biophys Acta* 1828(3):1102-1111.
24. Wang JA, Lin W, Morris T, Banderali U, Juranka PF, Morris CE (2009) Membrane trauma and Na+ leak from Nav1. 6 channels. *Am J Physiol Cell Physiol* 297(4):C823-C834.
25. Phillips R, Ursell T, Wiggins P, Sens P (2009) Emerging roles for lipids in shaping membrane-protein function. *Nature* 459(7245):379-385.
26. Jiang QX, Gonen T (2012) The influence of lipids on voltage-gated ion channels. *Curr Opin Struct Biol* 22(4):529-536.
27. Boucher PA, Joós B, Morris CE (2012) Coupled left-shift of Nav channels: modeling the Na+-loading and dysfunctional excitability of damaged axons. *J Comput Neurosci* 33(2):301-319.
28. Conti F, Inoue I, Kukita F, Stühmer W (1984) Pressure dependence of sodium gating currents in the squid giant axon. *Eur Biophys J* 11(2):137-147.
29. Bean BP (2007) The action potential in mammalian central neurons. *Nat Rev Neurosci* 8(6):451-465.
30. Yu N, Morris CE, Joós B, Longtin A (2012) Spontaneous excitation patterns computed for axons with injury-like impairments of sodium channels and Na/K pumps. *PLoS Comput Biol* 8(9):e1002664.
31. Volman V, Bazhenov M, Sejnowski TJ (2012) Computational models of neuron-astrocyte interaction in epilepsy. *Frontiers in computational neuroscience* 6:58.
32. Volman V, Ng LJ (2013) Computer Modeling of Mild Axonal Injury: Implications for Axonal Signal Transmission, *Neural Comput* 25(10):2646-2681.
33. Hodgkin AL, Huxley AF (1952) A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J Physiol* 117(4):500.
34. Fried K, Sessle BJ, Devor M (2011) The paradox of pain from the tooth-pulp: Low-threshold "algoneurons"?. *Pain*, 152(12):2685-2689.
35. Victor JD, Purpura KP (1996) Nature and precision of temporal coding in visual cortex: a metric-space analysis. *J Neurophysiol* 76(2):1310-1326.
36. Povlishock JT, Pettus EH (1996) Traumatically induced axonal damage: evidence for enduring changes in axolemmal permeability with associated cytoskeletal change. in *Mechanisms of Secondary Brain Damage in Cerebral Ischemia and Trauma* (pp. 81-86). Springer Vienna.
37. Greer JE, McGinn MJ, Povlishock JT (2011) Diffuse traumatic axonal injury in the mouse induces atrophy, c-Jun activation, and axonal outgrowth in the axotomized neuronal population. *J Neurosci* 31(13):5089-5105.
38. Smith DH, Hicks R, Povlishock JT (2013) Therapy development for diffuse axonal injury. *J Neurotrauma* 30(5):307-323.
39. Longtin A, Bulsara A, Moss F (1991) Time-interval sequences in bistable systems and the noise-induced transmission of information by sensory neurons. *Phys Rev Lett* 67(5):656.
40. Ochab-Marcinek A, Schmid G, Goychuk I, Hänggi P (2009) Noise-assisted spike propagation in myelinated neurons. *Phys Rev E* 79(1):011904.
41. Sun GC, Werkman TR, Wadman WJ (2006) Kinetic changes and modulation by carbamazepine on voltage-gated sodium channels in rat CA1 neurons after epilepsy. *Acta Pharmacol Sin* 27(12):1537-1546.
42. Park SB, Lin CS, Kiernan MC (2012) Nerve excitability assessment in chemotherapy-induced neurotoxicity. Journal of visualized experiments: *JoVE*, (62):3439.
43. Susuki K (2013) Node of Ranvier disruption as a cause of neurological diseases. *ASN neuro* 5(3):209-219.
44. Coggan JS, Ocker GK, Sejnowski TJ, Prescott SA (2011) Explaining pathological changes in axonal excitability through dynamical analysis of conductance-based models. *J Neural Eng* 8(6):065002.
45. Shankarappa SA, Tsui JH, Kim KN, Reznor G, Dohlman JC, Langer R, Kohane DS (2012) Prolonged nerve blockade delays the onset of neuropathic pain. *Proc Natl Acad Sci USA* 109(43):17555-17560.
46. Ross SE (2011) Pain and itch: insights into the neural circuits of aversive somatosensation in health and disease. *Curr Opin Neurobiol* 21(6):880-887.
47. Müller M, Somjen GG (2000) Na+ and K+ concentrations, extra-and intracellular voltages, and the effect of TTX in hypoxic rat hippocampal slices. *J Neurophysiol* 83(2):735-745.
48. Hao J, Padilla F, Dandonneau M, Lavebratt C, Lesage F, Noël J, Delmas P (2013) Kv1. 1 Channels Act as Mechanical Brake in the Senses of Touch and Pain. *Neuron* 77(5):899-914.
49. Lisney SJW, Devor M (1987) Afterdischarge and interactions among fibers in damaged peripheral nerve in the rat. *Brain Res* 415(1):122-136.
50. Vucic S, Kiernan MC (2006) Novel threshold tracking techniques suggest that cortical hyperexcitability is an early feature of motor neuron disease. *Brain* 129(9):2436-2446.
51. Baron R, Binder A, Wasner G (2010) Neuropathic pain: diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment. *Lancet Neurol* 9(8):807-819..

Supporting information

Lachance *et al*

SI Methods

Intact nodes of Ranvier. Each of the N = 10 nodes of Ranvier was modeled as an isopotential compartment with membrane voltage V_i given by:

$$-C\frac{\mathrm{d}V_i}{\mathrm{d}t} = I_{\mathrm{Na},i} + I_{\mathrm{K},i} + I_{\mathrm{pump},i} + I_{\mathrm{Na,leak},i} + I_{\mathrm{K,leak},i} + I_{\mathrm{leak},i} + \kappa(V_{i+1} + V_{i-1} - 2V_i) \quad \textbf{[S1]}$$

where i = 1, …, N is the node number. The last term on the RHS is the inter-compartment current and uses $V_0 = V_1$ and $V_{N+1} = V_N$ boundary conditions. The six first terms are transmembrane currents: the two currents (Na^+ and K^+) controlled by voltage-gated channels (VGC), the currents mediated by the population of Na/K pumps, and three ohmic leak currents (sodium, potassium and unspecified).

VGC currents. The voltage-gated sodium and potassium currents were modeled using the equations of the Hodgkin-Huxley (HH) model (1), with the usual kinetics for the Na- and K-gating:

$$I_{\mathrm{Na},i} = g_{\mathrm{Na}} m_i^2 h_i (V_i - E_{\mathrm{Na},i}) \quad \textbf{[S2]}$$

$$I_{\mathrm{K},i} = g_{\mathrm{K}} n_i^4 (V_i - E_{\mathrm{K},i}) \quad \textbf{[S3]}$$

where m_i and h_i model the activation and inactivation (availability) of the Nav channels while ni is the Kv channel gating variable. However, in this work, the HH model is augmented with time-varying concentration-dependent Nernst potentials E_{Na} and E_{K} given by

$$E_{\mathrm{X},i} = \frac{kT}{e}\ln\frac{[\mathrm{X}]_{\mathrm{o},i}}{[\mathrm{X}]_{\mathrm{i},i}} \qquad \mathrm{X} = \{\mathrm{Na},\mathrm{K}\} \quad \textbf{[S4]}$$

where the indexes o and i denote outer and inner concentrations respectively. Time-dependence of the concentrations is described below. In the HH model, the three gating variables evolve in time according to

$$\frac{\mathrm{d}x_i}{\mathrm{d}t} = \alpha_{x,i}(1 - x_i) - \beta_{x,i} x_i \qquad x = \{m,h,n\} \quad \textbf{[S5]}$$

The forward (a) and backward (b) rate functions are considered to be functions of the voltage V_i only that can be found in (1):

$$\begin{aligned} \alpha_m &= \tfrac{0.1(V+40)}{1-\exp(-4-0.1V)} & \beta_m &= 4\exp(\tfrac{-V-65}{18}) \\ \alpha_h &= 0.07\exp(\tfrac{-V-65}{20}) & \beta_h &= \tfrac{1}{1+\exp(-3.5-0.1V)} \\ \alpha_n &= \tfrac{0.01(V+55)}{1-\exp(-5.5-0.1V)} & \beta_n &= 0.125\exp(\tfrac{-V-65}{80}) \end{aligned} \quad \textbf{[S6]}$$

where the indexes i = node number were dropped, here and in all following equations, to ease notation and to avoid confusion with i = inner. Previous work (2) argued that HH kinetics approximates results obtained with more evolved models (eg, (3)) in which the kinetic coupling of activation and inactivation (availability) in Nav channels is represented using a many-state allosteric Markov model. The HH model, however, presents the advantage of using much less computational time.

Pump currents and concentration time dependence. Even though the activity of Na/K pumps shows a small dependence on voltage, in normal conditions it depends mostly on the concentration of the substrate (4). Therefore, we model the pump current at each node using the Michaelis-Menten enzyme kinetics model, as was also done in (5):

$$I_{\mathrm{pump}} = I_{\max}\left(\frac{[K^+]_\mathrm{o}}{[K^+]_\mathrm{o} + K_{\mathrm{M,K}}}\right)^2 \left(\frac{[Na^+]_\mathrm{i}}{[Na^+]_\mathrm{i} + K_{\mathrm{M,Na}}}\right)^3 \quad \textbf{[S7]}$$

where the exponents show up because the pump exchanges three inner Na^+ ions for each two outer K^+ ions.

The point of introducing pump currents is to investigate time-dependent ionic concentration changes. Na^+ and K^+ concentrations at each node evolve according to

$$\frac{\mathrm{d}[\mathrm{X}]_\mathrm{o}}{\mathrm{d}t} = -\frac{\mathrm{d}[\mathrm{X}]_\mathrm{i}}{\mathrm{d}t} = \left[I_\mathrm{X} + I_{\mathrm{X,pump}} + I_{\mathrm{X,leak}}\right]\frac{r}{F} \qquad \mathrm{X} = \{\mathrm{Na},\mathrm{K}\} \quad \textbf{[S8]}$$

where $I_{\mathrm{Na,pump}} = 3I_{\mathrm{pump}}$, $I_{\mathrm{K,pump}} = -2I_{\mathrm{pump}}$, I_X is the VGC current given by Eq. S2 or S3, $F = N_\mathrm{A}e$ = 96472 C/mol is the Faraday constant, r = 0.05 cm^2/L is the surface to volume ratio of the node of Ranvier and the inner and outer volumes are considered equal for simplicity. Note that 0.05 is a rather high value for r, chosen to shorten computation time without affecting phenomena qualitatively.

Concentration changes given by Eq. S8, in turn, affect the Nernst potential that appear in Eq. S2 and S3. Since these concentration changes are orders of magnitude slower than HH kinetics, they are neglected in some simulations. We did so by setting r = 0 in Eq. S8, not by returning to a standard HH model with $I_{\mathrm{pump}} = 0$ and $I_{\mathrm{X,leak}} = 0$. This ensures that constant concentrations are a limiting behavior of our model, not a feature of an entirely different model; it also promotes comparability of the results.

Leak currents. The sixth term in Eq. S1 is the regular HH unspecified leak current of the HH model, given by:

$$I_{\mathrm{leak}} = g_{\mathrm{leak}}(V - E_{\mathrm{leak}}) \quad \textbf{[S9]}$$

However, when pumps are added in the model, specified leak currents $I_{\mathrm{X,leak}}$ are also required: indeed, the total Na^+ and K^+ currents, found between square brackets in Eq. S8, need to both be zero when the node is at rest. Since the pump current is never zero and since there is a window current involving I_{Na} and I_K even at rest potential, specified leak currents are needed to balance total Na^+ and total K^+ currents separately (2). They are given by

$$I_{\mathrm{X,leak}} = g_{\mathrm{X,leak}}(V - E_\mathrm{X}) \qquad \mathrm{X} = \{\mathrm{Na},\mathrm{K}\} \quad \textbf{[S10]}$$

All equations were solved with RK4 method with variable timestep, implemented on a PC using code in C language. The variable timestep was adjusted as suggested in (6): the 5th order term was monitored and kept just below a 4×10^{-12} target. This term was then added to the 4th order (RK4) result.

Damaged node(s) of Ranvier. In our computational model, irreversible CLS of activation and inactivation of the Nav channels is readily modeled by shifting the voltage dependence of α_m, α_h, β_m and β_h by an amount LS (i.e. replacing V by $V + LS$ in Eq. S6, in the damaged node(s) only).

Individual channels are not modeled explicitly; rather, we assume all channels in the damaged ($i = 6 \equiv$ Q) node of Ranvier are left-shifted by the same LS value. In some figures, nodes $Q\pm1$ were also damaged, with the same LS value as for node Q. We do not consider situations where a distribution of LS values occurs at a same node, even though we expect our results to be easily extended to those situations.

Parameter selection. Unless stated otherwise, all parameters in the above equations take the values listed in Table S1. Of those, the classical parameters (C, g_{Na}, g_K) were chosen identical to the ones in (7). The three parameters $g_{Na,leak}$, $g_{K,leak}$ and I_{max} needed to be chosen to cancel the total Na^+ current and the total K^+ currents in the resting state. These two constraints for three unknowns left one degree of freedom. The last constraint that we considered is qualitative: the node should respond readily to a stimulation current which is a small fraction of the total Na^+ current observed during an AP. This consideration led us to select a reasonably small I_{max}. Finally, three remaining parameters (κ, N and the stimulation amplitude ΔV_{stim}, to be defined) will now be discussed in greater detail.

Simulations with a damaged axon will be compared with identical simulations on an intact (control) axon. This intact axon should behave normally: each time it is stimulated, it should fire an AP and each AP fired should be propagated faithfully in all nodes. Also, behavior should be independent of N, the total number of nodes. The last three parameters, κ, N and ΔV_{stim}, were chosen to ensure this expected behavior (Fig. S1).

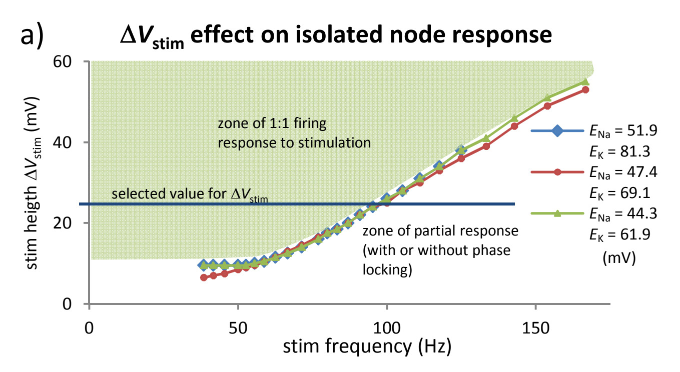
Stimulation at the initial node of the axon. To allow for the study of both periodic and aperiodic spike trains, node 1 has to be stimulated with timed delta functions, each causing an instantaneous ΔV_{stim} discontinuity in V_1. To select an appropriate value for ΔV_{stim}, we fed periodic stimulation of various heights ΔV_{stim} and frequencies f_{stim}, using $r = 0$ and $\kappa = 0$, and kept track of the ratio of firing frequency to fstim. Fig. S1*a* shows (in green) the range where this ratio is 1:1 and shows the value selected, $\Delta V_{stim} = 25$ mV. When $r > 0$ is restored, the system behaves normally for a prolonged stimulation period (Fig. S1*b*). When propagation is restored ($\kappa > 0$), the limit of the 1:1 zone slightly shifts towards lower frequencies (see "stim failure" limit on Fig. S1*c*).

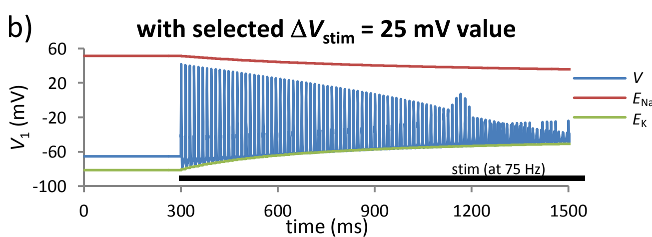
Outside the green range on Fig. S1*a*, too large ΔV_{stim} caused period doubling while too large stimulation frequencies caused partial response, with or without phase locking (other than 1:1). Interestingly, partial responses involved a Farey sequence of phase locked zones, surrounded by zones of aperiodic behavior, much like what Feingold *et al* (8) obtained in an externally driven van der Pol oscillator. Also, the green zone boundaries were slightly dependent on E_{Na} and E_K, as shown by the curves in Fig. S1*a*. The tested values of E_{Na} and E_K are typical of the depletion that occurs during a prolonged (300 ms) stimulation (red and green curves on Fig. S1*b*).

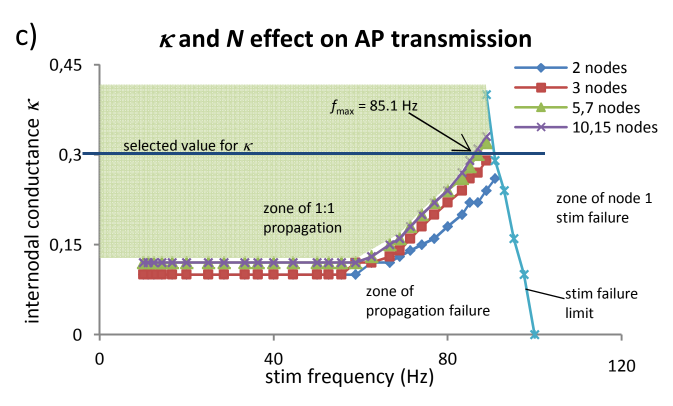
Propagation along the axon and length of the axon. In Eq. S1, the saltatory propagation along the computational axon was modeled by considering each internode as a single ohmic conductance κ linking two consecutive nodes of Ranvier. This is equivalent to assuming that the myelinated internodes have negligible capacitance. Consequently, their RC charging time constant is so small compared to the node of

Table S1. Constant parameters

Symbol	Signification	Normal value	Other value
Membrane properties			
C	Nodal capacity	1 μF/cm^2	
g_{Na}	Nav channel max conductance	120 mS/cm^2	
g_K	Kv channel max conductance	36 mS/cm^2	
g_{leak}	Unspecified leak conductance	0.5 mS/cm^2	
$g_{Na,leak}$	Na-specific leak conductance	0.0625 mS/cm^2	
$g_{K,leak}$	K-specific leak conductance	0.0205 mS/cm^2	
E_{leak}	Unspecified leak reversal potential	−65,4946 mV	
V_{rest}	Rest potential	−65,4946 mV	
I_{max}	Na/K pumps max current	23.6505 μA/cm^2	
$K_{M,Na}$	Na/K pump Na^+ Michaelis-Menten constant	10 mM	
$K_{M,K}$	Na/K pump K^+ Michaelis-Menten constant	3.5 mM	
T	Temperature	20 °C	Eq. S5 given in (1) for squid axons at 6.3 °C
r	Nodal surface to inner volume ratio	0.05 cm^2/L	0 cm^2/L used in Figs 2-6 and Figs. S5-S7.
-	Nodal inner to outer volume ratio	1	
Axon properties			
κ	Scaled internodal conductance	0,30 mS/cm^2	Fig. S1*a* uses 0. Fig. 5 and Fig. S6 both use 4/5, 5/4 and 6/4 of this value, for internodes 5-6 and 6-7 only.
Q	Damaged node number	6	Fig. 4*b* and Fig S3*b* also have nodes $Q\pm1$ damaged
N	Number of nodes in model axon	10	1 in Fig. S1*a*, various in Fig 1*c*.
Simulation parameters			
t_{LS}	Instant at which CLS is applied to damaged node(s)	0 ms	Average over several equidistant values in Fig. 3*a*.
t_κ	Instant at which nodes are connected togheter	100 ms	
t_{stim}	Instant at which stimulation starts	300 ms	
ΔV_{stim}	Amplitude of each stimulation applied to node 1	25 mV	Various in Fig. S1*a*
f_{max}	Maximum 1:1 propagation frequency	85,1 Hz	
f_{stim}	Stimulation frequency	-	$0 < f_{stim} < f_{max}$
VP metric parameters			
q	weight parameter	0.2 ms^{-1}	various in Fig. S5*a*.







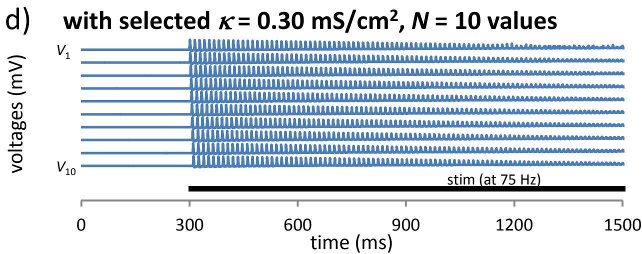


Fig. S1. Parameter tuning of the intact (control) system. (a) In green : range of stimulation strengths (DV_{stim}) and stimulation (stim) frequencies for which the isolated first node fires each time it is stimulated. The limit of the green zone (bounded by the curves) is recomputed for three fixed ENa and E_K values ($r = 0$), with $k = 0$. Value selected and used throughout this article : DV_{stim} = 25 mV. (b) Typical response of isolated node ($k = 0$) to prolonged periodic stimulation (denoted by black bar), once $r = 0.05$ cm^2/L is restored (DV_{stim} = 25 mV). Note that this r value is chosen large to promote rapid depletion of the Nernst potentials. (c) In green : range of internode conductances (k) and stim frequencies for which APs fired in node 1 are faithfully propagated to all N nodes. Limit of green zone is recomputed for various axon lengths (N), with $r = 0$. Values selected and used throughout this article: $N = 10$ nodes and $k = 0.30$ mS/cm^2. Note that the control system behaves normally for all stim frequencies <85.1 Hz. (d) Typical response to stimulation of the 10-node intact axon, once $r = 0.05$ cm^2/L is restored (stim as in (b), $k = 0.30$ mS/cm^2). The top node ($i = 1$) is the one being stimulated.

Ranvier's that the nodes can be assumed to directly charge one another. This approach was previously used in (7) and in a small portion of (2), although only constant current stimulation was used.

To select an appropriate value for κ, we fed periodic stimulation (ΔV_{stim} = 25 mV) of various f_{stim}, using $r = 0$, to axons having a range

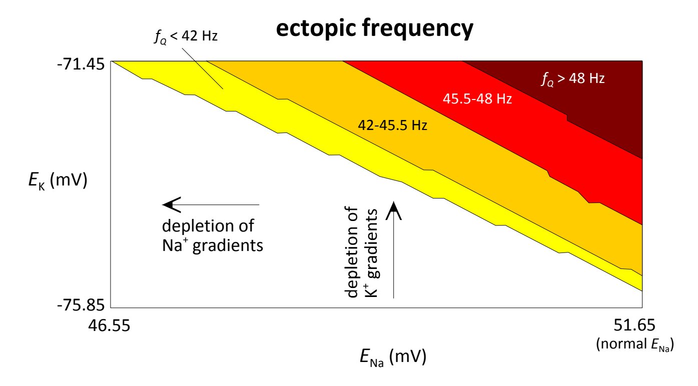


Fig. S2. Ectopic frequency as a function of E_{Na} and E_K, drawn for $LS = 3$ mV, $r = 0$, $t_{LS} = t_k = 0$ and no stimulation. White zone = not ectopic. Note that diminishing E_K brings the system into ectopicity, while diminishing E_{Na} does the opposite.

of κ values, and kept track of the ratio f_N/f_1 of the firing frequencies of node N and node 1. Fig. S1c shows (in green) the range where this ratio is 1:1 and the value selected, $\kappa = 0.3$ mS/cm^2. (We separately tested that κ was still low enough to prevent subthreshold oscillations to be propagated.) For short axons, the limit of the green zone on Fig. S1c was found to be N-dependent, but not above $N \approx 10$, the value we have thus chosen. At the right of the "stim failure" line, $f_1 < f_{stim}$ (zone of "stim failure") while at its left, despite the fact that $f_1 = f_{stim}$, there is a zone where $f_{10} = f_1$ (green zone) and another where $f_{10} < f_1$ (zone of "propagation failure"). Therefore, at κ = 0.3 mS/cm^2, propagation failure can be distinguished from stimulation failure. As for stim failure, propagation failure involves a Farey sequence of phase locking zones. When $r > 0$ is restored, the system behaves normally for a prolonged stimulation period (Fig. S1d). It does so for all firing frequencies ≤ 85.1 Hz.

SI Results

Onset of ectopic activity. Fig. S2 shows the limit between quiescent and ectopic behaviors as a function of E_{Na} and E_K. Diminishing E_K reduces the K^+ driving force and increases the rest potential, bringing it closer to firing threshold. Diminishing E_{Na} partially inverts that effect, but occurs too slowly to prevent the onset of ectopicity. Note that once ectopicity is triggered, further decline of E_K increases f_Q (see also Fig. S8).

Fig. S3 shows how the propagation of normal APs (i.e. those caused by a stimulation in node 1) can gradually diminish E_{Na} and E_K until the boundary shown in Fig. S2 is crossed. The top panel of Fig. S3a is a repetition of Fig. 1b for comparison and the top panel of Fig. S3b is the same obtained with nodes 5-7 damaged, while the middle and lower panels are, respectively, the values of E_K and E_{Na} at the time of the next stimulation following the onset of ectopic activity. Note how ectopic activity is triggered when a limit value of E_K is reached, whatever the value E_{Na} reached at the same time (this is mostly obvious on low f_{stim} curves).

Evaluation of the settling time in Fig. 3*a*. To draw Fig. 3a, the following procedure was followed:

1) Delays between the nth output spike in control and damaged axons were computed.

2) We tested if those delays converged towards a constant (potentially non zero) value (a small fluctuation was tolerated). If not, the settling time is infinite (longer than the simulation duration) and procedure stops. Otherwise, 1:1 phase locking is considered detected.

3) If phase locking is detected, we found the instant t_{lock} when consecutive delays started differing by less than 0.5 ms (we ensured that this difference didn't re-increase later by conducting the search

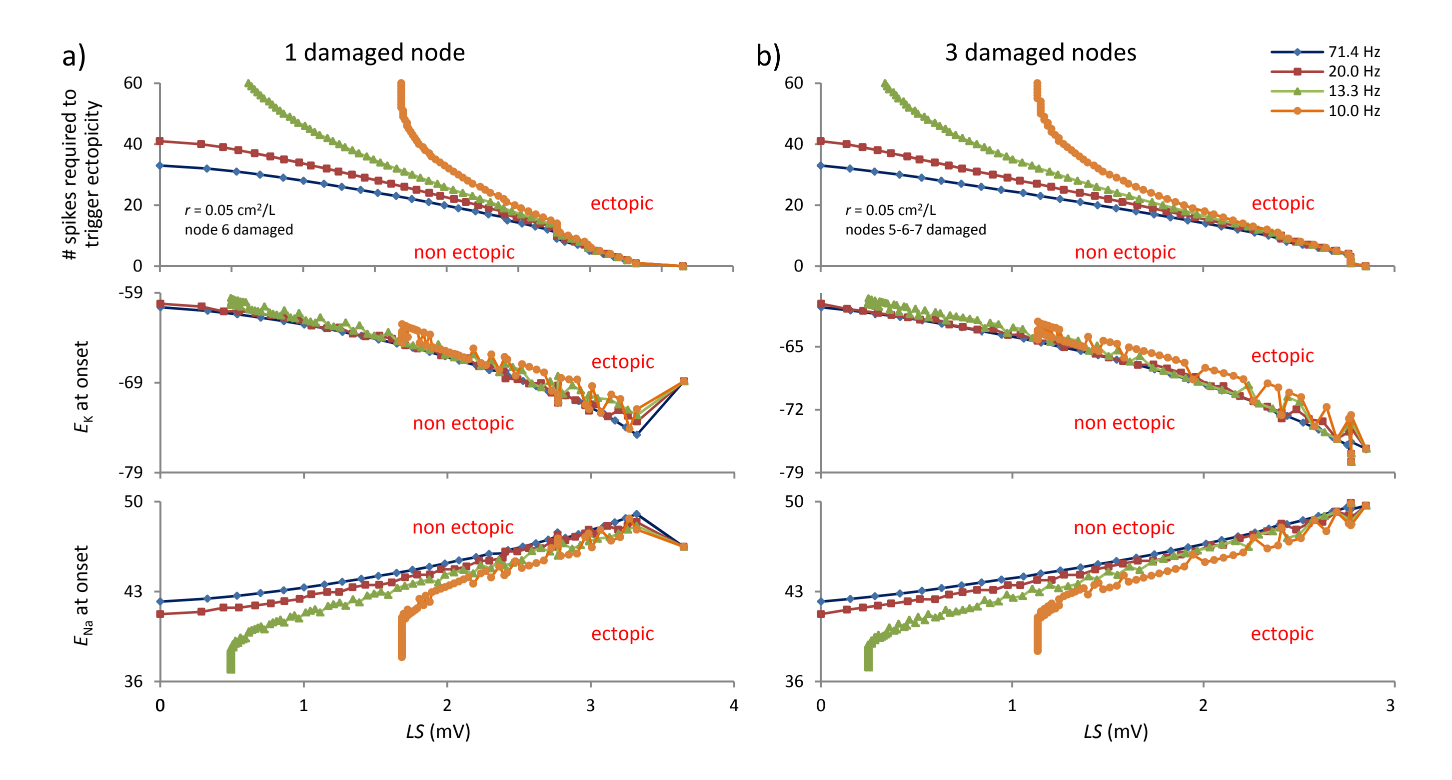


Fig. S3. Triggered ectopicity. (a) First panel: repetition of Fig 1*b*. Middle and lower panels: corresponding E_K and E_{Na} at the time of the next stimulation following the onset of ectopic activity. (b) Same as (a), with nodes 5-7 damaged. Note the change in horizontal scale.

with decreasing *t*). Once this instant was located between two consecutive spikes, we linearly interpolated the precise t_{lock}.
4) The settling time was then equal to $t_{\text{lock}} - t_{\text{first}}$, where t_{first} is the instant when the first AP reaches node 10 in the control system.
5) Finally, the result of step 4 was found to be dependent on the phase of the ectopic node at the instant when stimulation begins (remember: since node 6 is ectopic, it already fires at frequency f_Q before stimulation begins). To eliminate the influence of this factor, steps 1-4 were repeated 5 times, using equidistant phases obtained by changing t_{LS}. The five results were then averaged to yield a point of Fig. 3*a*.

VP metric (output infidelity). The Victor-Purpura (VP) metric (9) allows to compare two spike trains (S_a and S_b on Fig. S4) by evaluating the minimal series of elementary steps required to transform one of these trains into the other. Two elementary steps are possible, a "cost" being associated to each: adding/removing a spike (cost = 1) or shifting a spike by Δt (cost = $q\Delta t$, where q is an arbitrary parameter). All

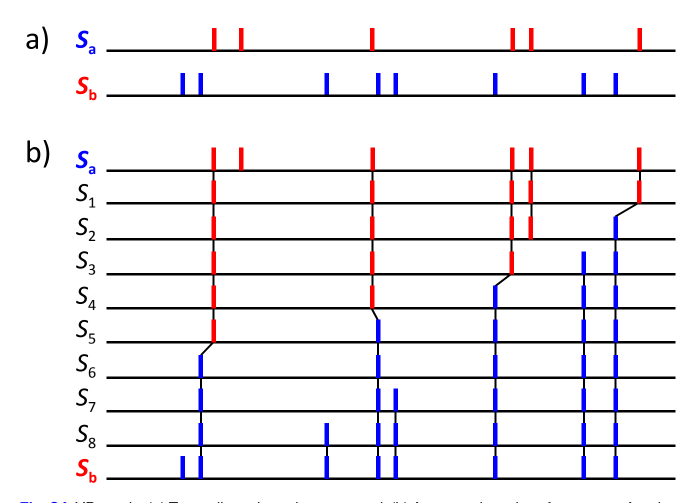


Fig. S4. VP metric. (a) Two spike trains to be compared. (b) An example series of steps transforming S_a into S_b, as involved in the VP metric that we use to measure infidelity. Modified from (9).

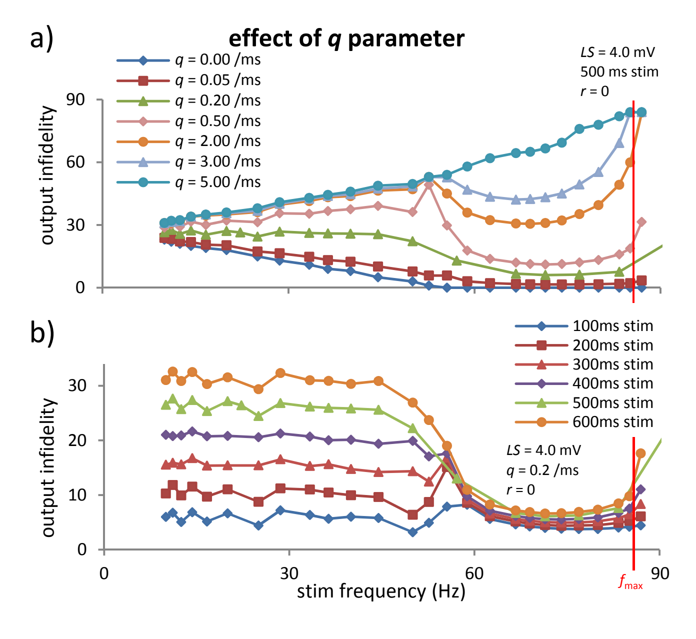


Fig. S5. Infidelity parameters (q and total stimulus duration) have no qualitative effect on results. (a) LS = 4 mV curve from Fig. 4*a* recomputed for various q values. Note that all curves $q < 5$ ms^{-1} show the propagation window. (b) LS = 4 mV curve from Fig. 4*a* recomputed for a range of stimulus intervals. Note that, as the stim duration is increased, settling time represents a smaller proportion of the comparison interval.

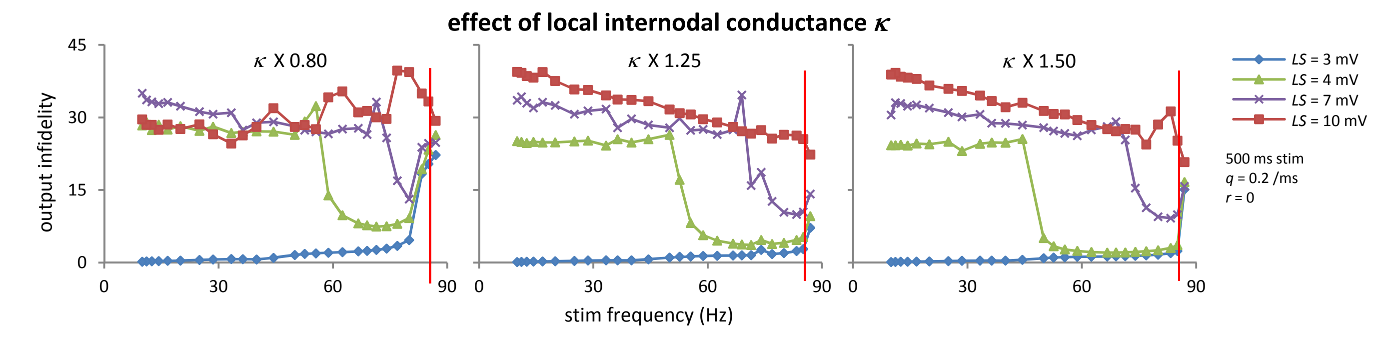


Fig. S6. Local increase/decrease of internodal conductance, as expected if the axon swells/shrinks in reaction to injury, reduces/increases infidelity. Figure is the same as Fig. 5, except that *LS* takes different values.

possible ways to convert S_a into S_b using these steps are computed (Fig. S4 shows a single one of them) and the *minimal* cost is considered a measure of the difference between S_a and S_b, their "VP distance".

Using the VP metric to evaluate output infidelity takes into account both settling time (during which a number of spikes are added) and phase shifts, thus producing a reasonable measure of output infidelity. In Fig. S5*a*, we show results for a range of *q* values.

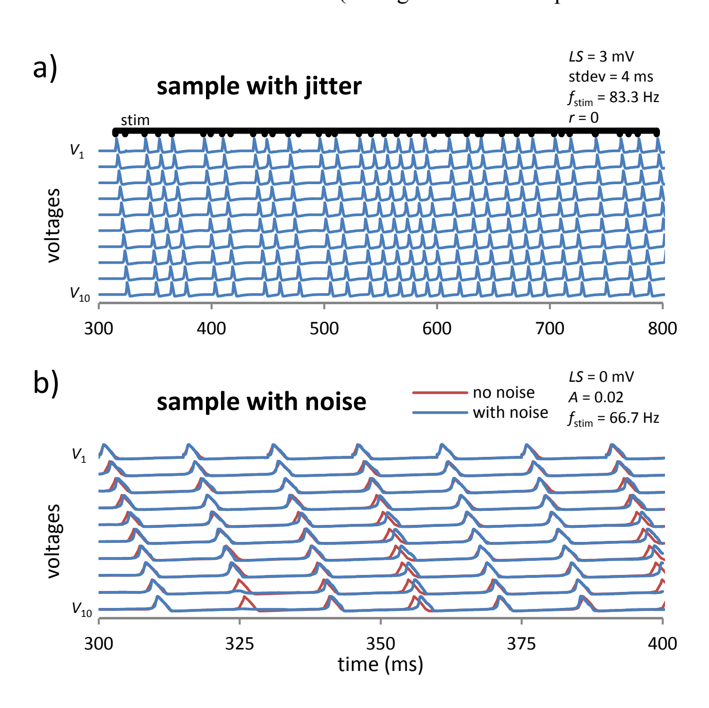
As shown in (9), this "VP distance" matches all the mathematical conditions to qualify as a metric. Therefore, if one imagines an abstract space where each possible spike train is a point, the cost obtained can be seen as a distance between these two points.

Effect of parameters on output infidelity. Fig. 4 used $q = 0.2\ \text{ms}^{-1}$ and 500 ms of stimulation / comparison time. Fig. S5 shows that one of our main results, namely the existence of a "propagation window", is independent of these two choices: except for very large *q* values, a propagation window is always observed (Fig. S5*a*). Also, increasing the duration of the stimulation (during which the output trains are compared), simply reduces the relative importance of the settling time, thus deepening the minimum band corresponding to the propagation window (Fig. S5*b*).

Note that the $q = 0$ curve on Fig. S5*a* shows zero output infidelity in the propagation window, meaning identical spike count. The non zero infidelity seen for identical f_{stim} on Fig. 4*a* (where $q > 0$) is therefore due only to timing differences, which are in turn due to the settling time and to the phase shift that we described in Fig. 3.

Effect of local conductance. While Fig. 5 shows the effect of local swelling or shrinking when *LS* = 4 mV, Fig. S6 shows the same for other values of *LS*.

Generation of jitter and noise. To produce each of the jittered inputs, we first generated a deterministic periodic spike train. Then, for each of the spikes in this input train, we used a random number generator to select a "displacement" from a Gaussian distribution of fixed standard deviation "*stdev*" (see legend on Fig. 6*a*). A total of 50 spike trains were thus obtained and saved, each with random displacements



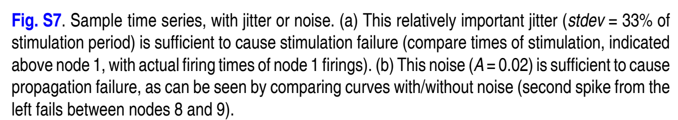


Fig. S7. Sample time series, with jitter or noise. (a) This relatively important jitter (*stdev* = 33% of stimulation period) is sufficient to cause stimulation failure (compare times of stimulation, indicated above node 1, with actual firing times of node 1 firings). (b) This noise (*A* = 0.02) is sufficient to cause propagation failure, as can be seen by comparing curves with/without noise (second spike from the left fails between nodes 8 and 9).

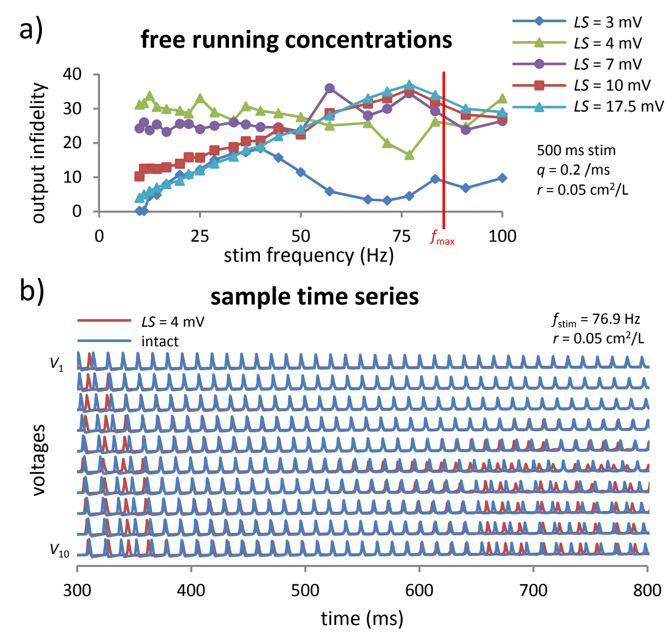


Fig. S8. Gradient depletion renders the propagation window transient. (a) Same as Fig. 4*a*, but with $r = 0.05\ \text{cm}^2/\text{L}$. Note the high infidelity for *LS* = 3 mV, due to triggered ectopicity (see Fig. 1 and Fig. S3). (b) Sample time series showing a settling time of 60-70 ms, followed by about 300 ms of phase locking and then by a loss of phase locking. If infidelity were evaluated for 350 ms of stimulus instead of 500 ms, it would be smaller here.

selected from the same Gaussian distribution. Each of those 50 input trains was then fed both to the control and damaged axons, producing each time two outputs that were compared using the usual VP metric to measure output infidelity. (This way, compared outputs are always affected by the same random effects.) Finally, the 50 infidelity values were averaged to produce one point on Fig. 6*a*.

A similar procedure was used to produce Fig. 6*b*: for each node, 50 lists of random numbers were selected from a Gaussian distribution with unit standard deviation (i.e. they are the increments of a Wiener process, ΔW_n). At each time step n, we added $A\sqrt{h}\Delta W_n$ to the voltage of the node, where ΔW_n is the nth number from that node's list, A is the noise amplitude (see legend on Fig. 6*b*) and h is the integration time step. Note that when noise was present, we turned off the adaptative time step and used $h = 0.001$ ms. As in Fig. 6*a*, the same lists were used both for the intact and damaged system. The outputs were compared using the VP metric and the 50 output infidelities were averaged to produce a point on Fig. 6*b*.

To help visualize the relative importance of jitter with respect to quasiperiod or the importance of noise relative to voltage excursions, Fig. S7 shows an example time series of each.

Output infidelity with free running ionic concentrations. When $r = 0.05$ cm^2/L, pumps cannot speed up enough to prevent E_{Na} and E_K from declining. At first, the Nernst potentials are nearly unchanged. Therefore, mildy damaged axons, for which the "settling time" is the shortest, have no trouble phase locking 1:1. However, their ion gradients eventually deplete, f_Q increases, the 1:1 phase locking condition is lost. Therefore, for the total stimulus duration (500 ms), the propagation window is shallower. Fig. S8 shows this, both with a time series and with an output infidelity diagram.

1. Hodgkin AL, Huxley,AF (1952) A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *The Journal of physiology* 117(4):500.
2. Boucher PA, Joós B, Morris CE (2012) Coupled left-shift of Nav channels: modeling the Na+-loading and dysfunctional excitability of damaged axons. *Journal of computational neuroscience* 33(2):301-319.
3. Taddese, A., & Bean, B. P. (2002). Subthreshold sodium current from rapidly inactivating sodium channels drives spontaneous firing of tuberomammillary neurons. *Neuron* 33(4):587-600.
4. Läuger P (1991) *Electrogenic ion pumps (Vol. 5).* Sunderland: Sinauer Associates.
5. Kager H, Wadman WJ, Somjen GG (2000) Simulated seizures and spreading depression in a neuron model incorporating interstitial space and ion concentrations. *Journal of neurophysiology* 84(1):495-512.
6. Press WH, Teukolsky SA, Vetterling WT, Flannery BP (1992) *Numerical Recipes in C: The Art of Scientific Computing*, Cambridge.
7. Ochab-Marcinek A, Schmid G, Goychuk I, Hänggi P (2009) Noise-assisted spike propagation in myelinated neurons. *Physical Review E* 79(1):011904.
8. Feingold M, Gonzalez DL, Piro O, Viturro H (1988) Phase locking, period doubling, and chaotic phenomena in externally driven excitable systems.*Physical Review A* 37(10):4060-4063.
9. Victor JD, Purpura KP (1996) Nature and precision of temporal coding in visual cortex: a metric-space analysis. *Journal of Neurophysiology* 76(2):1310-1326.

Conclusion

Après avoir rendu accessible, dans les chapitres 1 et 2, une solide base pour les lecteurs qui débutent dans le domaine, nous avons présenté, au chapitre 3, la littérature sur les cloques qui se forment dans des membranes endommagées, le décalage cinétique vers la gauche (CLS) qu'elles causent dans les canaux Na_V et les conséquences de ce dernier, notamment la dégénérescence secondaire et l'activité ectopique. Le chapitre 4 a permis l'obtention, grâce à notre modèle numérique d'axone, de deux prédictions-clé de phénomènes se produisant dans des axones très faiblement endommagés : la propagation de quelques potentiels d'action peut rendre le comportement du système ectopique, un peu comme le ferait une augmentation du niveau de dommage ; quand l'axone comporte une portion au comportement ectopique, toute incidence de potentiels d'action à une fréquence plus élevée que la fréquence d'émission des influx ectopiques permet de «dompter» le noeud de Ranvier endommager et de propager le train d'impulsions avec une altération minimale.

Des modifications pourraient être apportées au modèle, dans d'éventuelles travaux supplémentaires sur l'effet du CLS, afin d'améliorer sa capacité prédictive. En particulier, le compléter afin qu'il représente deux neurones complets et non un seul segment d'axone serait une avenue prometteuse. Ainsi, le modèle inclurait au moins une synpase et on pourrait notamment étudier les effets à court terme que produisent les trains d'impulsions altérés sur la stimulation du neurone postsynaptique (surtout en tenant compte des effets de persistance et d'accommodation) ou encore les effets de plasticité synaptique qu'ils produisent à plus long terme.

L'objectif ultime de travaux de recherche comme les nôtres est de contribuer à guider la recherche thérapeutique afin qu'elle puisse un jour prévenir l'apparition de douleurs neuropathiques ou la dégénérescence secondaire des axones légèrement touchés. Déjà, notre résultat montrant que la stimulation peut faire bifurquer le comportement d'un axone pourrait entraîner des recommandations faisant en sorte que tout stimulus de la zone endommagée soit évité. De même, au plan pharmaceutique, en contribuant à lier les cloques, le CLS qu'elles entraînent dans les canaux Na_V et l'effet de ce CLS sur l'influx de calcium et sur l'activité ectopique, nous espérons avoir contribué à la reconnaissance d'un besoin, celui de cibler les canaux Na_V situés dans des cloques plutôt que les canaux Na_V en général.

Cette page est intentionnellement blanche.

Bibliographie

Livres

Campbell Na, Reece JB, Lachaîne R, Bosset M 2007. *Biologie*, ERPI, Montréal, 1334 p.
Dayan P, Abott LF, Abott L 2001. *Theoretical Neuroscience*, MIT Press, Cambridge, 460 p.
Guyton AC & Hall JE 2011. *Textbook of Medical Physiology*, Saunders Elsevier, Philadelphia, 1091 p.
Hille B 2001. *Ion Channels of Excitable Membranes*, Sinauer Associates, Sunderland, 814 p.
Hirsch C 2007. *Numerical computation of internal and external flows: The fundamentals of computational fluid dynamics (Vol. 1)*. Butterworth-Heinemann.
Landau RH, Páez MJ, Bordeianu CC 2007. *Computational Physics: problem solving with computers*, Wiley, Weinhelm, 593 p.
Läuger P 1991. *Electrogenic Ion Pumps*, Sinauer Associates, Sunderland, 313 p.
Lodish H 2000. *Molecular Cell Biology*, W H Freeman, New York.
Marieb EN & Hoehn K 2010. *Anatomie et physiologie humaines*, ERPI, Montréal, 1293 p.
Nelson P 2008. *Biological Physics*, WH Freeman, New York, 630 p.
Press WH, Teukolsky SA, Vetterling WT, Flannery BP 1992. *Numerical Recipes in C*, Cambridge University Press, Cambridge, 994 p.
Scott A 2002. *Neuroscience, a Mathematical Primer*, Springer, New York, 352 p.
Sterratt D, Graham B, Gillies A, Willshaw D 2011. *Principles of Computational Modeling in Neuroscience*, Cambridge University Press, Cambridge, 390 p.
Strogatz SH 1994. *Nonlinear dynamics and chaos: with applications to physics, biology, chemistry and engineering*, Westview Press, 498 p.
Zinke-Allmang M, Sills K, Nejat R, Galiano-Riveros E 2013. *Physics for the Life Sciences*, Nelson, Toronto, 677 p.

Articles

Adrian ED &Zotterman Y 1926. «The impulses produced by sensory nerve endings, Part 2: The response of a single end organ», *Journal of Physiology*, 61, pp. 151-171.
Albers RW 1967. «Biochemical aspects of active transport», *Annual Review of Biochemistry*, 36(1), pp. 727-756.
Amir R, Michaelis M, Devor M 2002. «Burst discharge in primary sensory neurons: triggered by subthreshold oscillations, maintained by depolarizing afterpotentials», *Journal of Neuroscience*, 22(3), pp. 1187-1198.
Armstrong CM & Bezanilla F 1977. «Inactivation of the sodium channel: Gating current experiments», *The Journal of General Physiology*, 70(5), pp. 567-590.
Arundine M, Aarts M, Lau A, Tymianski M 2004. «Vulnerability of central neurons to secondary insults after in vitro mechanical stretch», *Journal of Neuroscience*, 24(37), pp. 8106-8123.
Banerjee K, Das B, Gangopadhyay G 2013. «On the estimation of cooperativity in ion channel kinetics: Activation free energy and kinetic mechanism of *Shaker* K^+ channel», *Journal of Chemical Physics*, 138, 165102.

Bae JS, Kim OK, Kim JM 2011. «Altered nerve excitability in subclinical/early diabetic neuropathy: Evidence for early neurovascular process in diabetes mellitus?», *Diabetes Research and Clinical Practice*, 91, pp. 183-189.
Baron R, Binder A, Wasner G 2010. «Neuropathic pain: diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment», *Lancet Neurology*, 9(8), pp. 807-819.
Basu S & Sharma MM 1997. «An improved space-charge model for flow through charged microporous membranes», *Journal of membrane science*, 124(1), pp. 77-91.
Bean BP 2007. «The action potential in mammalian central neurons», *Nature Reviews Neuroscience*, 8(6), pp. 451-465.
Bialer M 2012. «Why are antiepileptic drugs used for nonepileptic conditions?», *Epilepsia*, 53(s7), pp. 26-33.
Borys P 2013. «The role of passive calcium influx through the cell membrane in galvanotaxis», *Cellular & molecular biology letters*, pp. 1-13.
Boucher PA, Joós B, Morris CE 2012. «Coupled left-shift of Nav channels: modeling the Na^+-loading and dysfunctional excitability of damaged axons», *Journal of Computational Neuroscience*, 33(2), pp. 301-319.
Bouhassira D, Lantéri-Minet M, Attal N, Laurent B, Touboul C 2008. «Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population», *Pain*, 136(3), pp. 380-387.
Butts DA, Weng C, Jin J, Yeh CI, Lesica NA, Alonso JM, Stanley GB 2007. «Temporal precision in the neural code and the timescales of natural vision», *Nature* 449, pp. 92-95.
Censi MF, Calcagnini G, Lino S, Seydnejad SR, Kitney RI, Cerutti S 2000. «Transient phase locking patterns among respiration, heart rate and blood pressure during cardiorespiratory synchronisation in humans», *Medical and Biological Engineering and Computing*, 38(4), pp. 416-426.
Chandy KG 1991. «Simplified gene nomenclature», *Nature*, 352(6330), p. 26.
Charras GT 2008a. «A short history of blebbing», *Journal of Microscopy*, 231(3), pp. 466-478.
Charras G & Paluch E 2008b. «Blebs lead the way: how to migrate without lamellipodia», *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(9), pp. 730-736.
Chiu SY, Ritchie JM, Rogart RB, Stagg D 1979. «A quantitative description of membrane currents in rabbit myelinated nerve», *Journal of Physiology*, 292, pp. 149-166.
Coggan JS, Ocker GK, Sejnowski TJ, Prescott SA 2011. «Explaining pathological changes in axonal excitability through dynamical analysis of conductance-based models», *Journal of Neural Engineering*, 8(6), p. 065002.
Coleman ML, Sahai EA, Yeo M, Bosch M, Dewar A, Olson MF 2001. «Membrane blebbing during apoptosis results from caspase-mediated activation of ROCK I», *Nature Cell Biology*, 3, pp. 339-345.
Conti F, Inoue I, Kukita F, Stühmer W 1984. «Pressure dependence of sodium gating currents in the squid giant axon», *European Biophysics Journal*, 11(2), pp. 137-147.
Cornelius F 1990. «Variable stoichiometry in reconstituted shark Na,K-ATPase engaged in uncoupled efflux», *Biochimica et Biophysica Acta*, 1026, pp. 147-152.
Costigan M, Scholz J, Woolf CJ 2009. «Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage», *Annual review of neuroscience*, 32, pp. 1-32.
Coutaux A, Adam F, Willer JC, Le Bars D 2005. «Hyperalgesia and allodynia: peripheral mechanisms», *Joint Bone Spine*, 72(5), pp. 359-371.

Cruz FAO, Vilhena FSDS, Cortez CM 2000. «Solution of non-linear Poisson-Boltzmann equation for erythrocyte membrane», *Brazilian Journal of Physics*, 30(2), pp. 403-409.
Dart C 2010. «Lipid microdomains and the regulation of ion channel function», *Journal of Physiology*, 588, pp. 3169-3178.
Dinic J, Ashrafzadeh P, Parmryd I 2013. «Actin filaments attachment at the plasma membrane in live cells cause the formation of ordered lipid domains», *Biochimica et Biophysica Acta*, 1828, pp. 1102-1111.
Doyle DA, Cabral JM, Pfuetzner RA, Kuo A, Gulbis JM, Cohen SL, Chait BT, MacKinnon R 1998. «The structure of the potassium channel: molecular basis of K^+ conduction and selectivity», *Science*, 280(5360), pp. 69-77.
Fackler OT & Grosse R 2008. «Cell motility through plasma membrane blebbing», *Journal of Cell Biology*, 181, pp. 879-884.
Fazen LE & Ringkamp M 2007. «The pathophysiology of neuropathic pain: a review of current research and hypotheses», *Neurosurgery Quarterly*, 17(4), pp. 245-262.
Feingold M, Gonzalez DL, Piro O, Viturro H 1988. «Phase locking, period doubling, and chaotic phenomena in externally driven excitable systems», *Physical Review A*, 37(10), pp. 4060-4063.
Fiadeiro ME & Veronis G 1977. «On weighted mean schemes for the finite difference approximation to the advection diffusion equation», *Tellus*, 29(6), pp. 512-522.
FitzHugh R 1961. «Impulses and physiological states in theoretical models of nerve membrane», *Biophysical Journal*, 1, pp. 445-466
Florence G, Dahlem MA, Almeida ACG, Bassani JW, Kurths J 2009. «The role of extracellular potassium dynamics in the different stages of ictal bursting and spreading depression: a computationnal study», *Journal of Theoretical Biology*, 258, 219-228.
Frankenhaeuser B & Dodge FA 1958. «Membrane currents in isolated from nerve fibre under voltage clamp conditions», *Journal of Physiology*, 143, pp. 76-90.
Fried K, Sessle BJ, Devor M 2011. «The paradox of pain from tooth pulp: low-threshold "algoneurons?"», *Pain*, 152(12), pp. 2685-2689.
Gadsby DC 2009. «Ion channels versus ion pumps: the principal difference, in principle», *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 10(5), pp. 344-252.
Gadsby DC, Bezanilla F, Rakowski RF, De Weer P, Holmgren M 2012. «The dynamic relationships between the three events that release inidividual Na^+ ions from the Na^+/K^+-ATPase», *Nature Communications*, 3, 669.
Glynn IM 2002. «A hundred years of sodium pumping», *Annual Review of Physiology*, 64(1), pp. 1-18.
Goldman DE 1943. «Potential, impedance and rectification in membranes», *The Journal of General Physiology*, 27(1), pp. 37-60.
Goldstein SA, Bockenhauer D, O'Kelly I, Zilberberg N 2001. «Potassium leak channels and the KCNK family of two-P-domain subunits». *Nature Reviews Neuroscience*, 2 (3), pp. 175-184.
Greer JE, McGinn MJ, Povlishock JT 2011. «Diffuse traumatic axonal injury in the mouse induces atrophy, c-Jun activation, and axonal outgrowth in the axotomized neuronal population», *Journal of Neuroscience*, 31(13), pp. 5089-5105.
Greer JE, Povlishock JT, Jacobs KM 2012. «Electrophysiological abnormalities in both axotomized and nonaxotomized pyramidal neurons following mild traumatic brain injury», *Journal of Neuroscience*, 32(19), pp. 6682-6687.

Hagmann J, Burger MM, Dagan D 1999. «Regulation of plasma membrane blebbing by the cytoskeleton», *Journal of Cellular Biochemistry*, 73, pp. 488-499.
Hallermann S, de Kock CP, Stuart GJ, Kole MH 2012. «State and location dependence of action potential metabolic cost in cortical pyramidal neurons». *Nature neuroscience*, 15(7), pp. 1007-1014.
Hamill OP, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FJ 1981. «Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches», *European Journal of Physiology*, 391 (2), pp. 85-100.
Han Chul H, Hyun Lee D, Mo Chung J 2000. «Characteristics of ectopic discharges in a rat neuropathic pain model», *Pain*, 84, pp. 253-261.
Hao J, Padilla F, Dandonneau M, Lavebratt C, Lesage F, Noël J, Delmas P 2013. «Kv1.1 Channels Act as Mechanical Brake in the Senses of Touch and Pain», *Neuron*, 77(5), pp. 899-914.
Hartline DK 2008. «What is myelin ?», *Neuron Glia Biology*, 4(02), pp. 153-163.
Hartshorne RP & Catterall WA 1981. «Purification of the saxitoxin receptor of the sodium channel from rat brain», *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78, pp. 4620-4624.
Hickson GR, Echard A, O'Farrell PH 2006. «Rho-kinase controls cell shape changes during cytokinesis», *Current Biology*, 16(4), pp. 359-370.
Hodgkin AL, Huxley AF, Katz B 1952a. «Measurement of current-voltage relations in the membrane of the giant axon of *loligo*», *Journal of Physiology*, 116, pp. 424-448.
Hodgkin AL & Huxley AF 1952b. «Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of *loligo*», *Journal of Physiology*, 116, pp. 449-472.
Hodgkin AL & Huxley AF 1952c. «The components of membrane conductance in the giant axon of *loligo*», *Journal of Physiology*, 116, pp. 473-496.
Hodgkin AL & Huxley AF 1952d. «The dual effect of membrane potential on sodium conductance in the giant axon of *loligo*», *Journal of Physiology*, 116, pp. 497-506.
Hodgkin AL & Huxley AF 1952e. «A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve», *Journal of Physiology*, 117, pp. 500-544.
Hodgkin AL & Katz B 1949. «The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid», *The Journal of Physiology*, 108, pp. 37-77.
Holmgren M, Wagg J, Bezanilla F, Rakowski RF, De Weer P, Gadsby DC 2000. «Three distinct and sequential steps in the release of sodium ions by the Na^+/K^+-ATPase», *Nature*, 403, pp. 898-901.
Iwata A, Stys PK, Wolf JA, Chen XH, Taylor AG, Meaney DF, Smith DH 2004. «Traumatic axonal injury induces proteolytic cleavage of the voltage-gated sodium channels modulated by tetrodotoxin and protease inhibitors», *Journal of Neuroscience*, 24 (19), pp. 4605-4613.
Jacob R, Lieberman M, Murphy E, Piwnica-Worms D 1987. «Effects of sodium-potassium pump inhibition and low sodium on membrane potential in cultured embryonic chick heart cells», *Journal of Physiology*, 387, pp. 549-566.
Jiang QX & Gonen T 2012. «The influence of lipids on voltage-gated ion channels», *Current opinion in structural biology*, 22(4), pp. 529-536.
Kager H, Wadman WJ, Somjen GG 2000. «Simulated seizures and spreading depression in a neuron model incorporating interstitial space and ion concentrations», *Journal of Neurophysiology*, 84(1), pp. 495-512.

Kajander KC & Bennett GJ 1992. «Onset of a painful peripheral neuropathy in rat: a partial and differential deafferentation and spontaneous discharge in A beta and A delta primary afferent neurons», *Journal of Neurophysiology*, 68, pp. 734–744.
Kocsis JD & Devor M 2000. «Altered excitability of large-diameter cutaneous afferents following nerve injury: consequences for chronic pain», *Proceedings of the 9th World Congress on Pain: Progress in Pain Research and Management*, Seattle, 16, pp. 119-135.
Li Y, Schmid G, Hänggi P 2010. «Noisy saltatory spike propagation: the breakdown of signal transmission due to channel noise», *The European Physical Journal Special Topics*, 187(1), pp. 171-177.
Lisney SJW, Devor M 1987. «Afterdischarge and interactions among fibers in damaged peripheral nerve in the rat», *Brain Research*, 415(1), pp. 122-136.
Liu X, Eschenfelder S, Blenk KH, Jänig W, Häbler HJ 2000a. «Spontaneous activity of axotomized afferent neurons after L_5 spinal nerve injury in rats», *Pain*, 84, pp. 309-318.
Liu CN, Michaelis M, Amir R, Devor M 2000b. «Spinal nerve injury enhances subthreshold membrane potential oscillations in DRG neurons: relation to neuropathic pain», *Journal of Neurophysiology*, 84, pp. 205-215.
Liu CN, Wall PD, Ben-Dor E, Michaelis M, Amir R, Devor M 2000c. «Tactile allodynia in the absence of C-fiber activation: altered firing properties of DRG neurons following spinal nerve injury», *Pain*, 85, pp. 503-521.
Liu CN, Devor M, Waxman SG, Kocsis JD 2002. «Subthreshold oscillations induced by spinal nerve injury in dissociated muscle and cutaneous afferents of mouse DRG», *Journal of Neurophysiology*, 87, pp. 2009-2017.
Long SB, Campbell EB, MacKinnon R 2005. «Crystal structure of a mammalian voltage-dependent *shaker* family K^+ channel», *Science*, 309, pp. 897-903.
Longtin A, Bulsara A, Moss F 1991. «Time-interval sequences in bistable systems and the noise-induced transmission of information by sensory neurons», *Physical Review Letters*, 67(5), pp. 656-659.
Lundbæk JA, Birn P, Hansen AJ, Søgaard R, Nielsen C, Girshman J, Bruno MJ, Tape SE, Egebjerg J, Greathouse DV, Mattice GL, Koeppe RE 2nd, Andersen OS 2004. «Regulation of sodium channel function by bilayer elasticity: the importance of hydrophobic coupling. Effects of micelle-forming amphiphiles and cholesterol», *Journal of General Physiology*, 123, pp. 599-621.
Ma C & LaMotte RH 2007. «Multiple sites for generation of ectopic spontaneous activity in neurons of the chronically compressed dorsal root ganglion», *Journal of Neuroscience*, 27(51), pp. 14059-14068.
Maxwell WL 1996. «Histopathological changes at central nodes of Ranvier after stretch injury», *Microscopy Research and Technique*, 34(6), pp. 522-535.
Mercer J & Helenius A 2008. «Vaccinia virus uses macropinocytosis and apoptotic mimicry to enter host cells», *Science*, 320, pp. 531-535.
Mills JC, Stone NL, Erhardt J, Pittman RN 1998. «Apoptotic membrane blebbing is regulated by myosin light chain phosphorylation», *Journal of Cell Biology*, 140(3), pp. 627-636.
Milton RL & Caldwell JH 1990. «Na current in membran blebs: implications for channel mobility and patch clamp recording», *Journal of Neuroscience*, 10(3), pp. 885-893.
Mirollo RE & Strogatz SH 1990. «Synchronization of pulse-coupled biological oscillators», *SIAM Journal on Applied Mathematics*, 50(6), pp. 1645-1662.

Monti JL, Montes MR, Rossi RC 2013. «Alternative cycling modes of the Na^+/K^+-ATPase in the presence of either Na^+ or Rb^+», *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1828(5), pp. 1374-1383.
Moore JW, Joyner RW, Brill MH, Waxman SD, Najar-Joa M 1978. «Simulations of conduction in uniform myelinated fibers, relative sensitivity to changes in nodal and internodal parameters», *Biophysical Journal*, 21, pp. 147-160.
Morais-Cabral JH, Zhou Y, MacKinnon R 2001. «Energetic optimization of ion conduction rate by the K^+ selectivity filter», *Nature*, 414, pp. 37-42.
Morris CE & Lecar H 1981. «Voltage oscillations in the barnacle giant muscle fiber», *Biophysical Journal*, 35(1), pp. 193-213.
Morris CE 2011. «Voltage-gated channel mechanosensitivity: fact or friction?», *Frontiers in physiology*, 2, article 25.
Morris CE, Boucher PA, Joós B 2012a. «Left-shifted Na_V channels ininjured bilayer: primary targets for neuroprotective Na_V antagonists?», *Frontiers in Pharmacology*, 3, article 19.
Müller M, Somjen GG 2000. «Na^+ and K^+ concentrations, extra-and intracellular voltages, and the effect of TTX in hypoxic rat hippocampal slices». *Journal of Neurophysiology*, 83(2), pp. 735-745.
Nagumo J, Arimoto S, Yoshizawa S 1962. «An active pulse transmission line simulating nerve axon», *Proceedings of the IRE*, 50, pp. 2061-2070.
Nakao M & Gadsby DC 1989. «[Na] and [K] dependence of the Na/K pump current-voltage relationship in guinea pig ventricular myocytes», *Journal of General Physiology*, 94(3), pp. 539-565.
Neher E & Sakmann B 1976. «Single-channel currents recorded from membrane of denervated from muscle fibres», *Nature*, 260, pp. 799-802.
Nickel FT, Seifert F, Lanz S, Maihöfner C 2012. «Mechanisms of neuropathic pain», *European Neuropsychopharmacology*, 22(2), pp. 81-91.
Novak KR, Nardelli P, Cope TC, Filatov G, Glass JD, Khan J, Rich MM 2009. «Inactivation of sodium channels underlies reversible neuropathy during critical illness in rats», *Journal of Clinical Investigation*, 119(5), pp. 1150.
Ochab-Marcinek A, Schmid G, Goychuk I, Hänggi P 2009. «Noise-assisted spike propagation in myelinated neurons», *Physical Review E*, 79 (1), 011904.
Odom AL 1993. «Action potentials and biology textbooks: accurate, misconceptions or avoidance ?», *The American Biology Teacher*, 55(8), pp. 468-472.
Offner FF 1970. «Kinetics of Excitable Membranes Voltage amplification in a diffusion regime», *Journal of General Physiology*, 56(2), pp. 272-296
Paluch EK & Raz E 2013. «The role and regulation of blebs in cell migration», *Current Opinion in Cell Biology* (in press).
Park SB, Lin CS, Kiernan MC 2012. «Nerve excitability assessment in chemotherapy-induced neurotoxicity», *Journal of Visualized Experiments*, 62, e3439.
Patlak JB & Ortiz M 1986. «Two modes of gating during late Na^+ channel currents in frog sartorius muscle», *Journal of General Physiology*, 87, pp. 305-326h.
Patra M 2005. «Lateral pressure profiles in cholesterol-DPPC bilayers», *European Biophysics Journal*, 35, pp. 79-88.
Phillips R, Ursell T, Wiggins P, Sens P 2009. «Emerging roles for lipids in shaping membrane-protein function», *Nature*, 459, pp. 379-385.

Plesner L & Plesner IW 1985a. «Kinetics of Na^+-ATPase: influence of Na^+ and K^+ on substrate binding and hydrolysis», *Biochimica et Biophysica Acta*, 818, pp. 222–234.
Plesner L & Plesner IW 1985b. «Kinetics of Na^+-ATPase: analysis of the influence of Na^+ and K^+ by steady-state kinetics», *Biochimica et Biophysica Acta*, 818, pp. 235–250.
Post RL, Hegyvary C, Kume S 1972. «Activation by adenosine triphosphate in the phosphorylation kinetics of sodium and potassium ion transport adenosine triphosphatase», *Journal of Biological Chemistry*, 247(20), pp. 6530-6540.
Poulsen H, Khandelia H, Morth JP, Bublitz M, Mouritsen OG, Egebjerg J, Nissen P 2010. «Model for ion transport by the Na^+/K^+-ATPase in a simplified Post-Albers scheme», *Nature*, 467, pp. 99-102.
Rasband MN & Shrager P 2000. «Ion channel sequestration in central nervous system axons», *The Journal of Physiology*, 525, pp. 63-73.
Ratheal IM, Virgin GK, Yu H, Roux B, Gatto C, Artigas P 2010. «Selectivity of externally facing ion-binding sites in the Na/K pump to alkali metals and organic cations», *PNAS*, 107(43), pp. 18718-18723.
Reves N & Gadsby DC 2006. «Ion permeation through the Na+,K+-ATPase», *Nature*, 443(7110), pp. 470-474.
Ridley AJ 2011. «Life at the leading edge», *Cell*, 145(7), pp. 1012-1022.
Rigoard P, Chaillou M, Fares M, Sottejeau Y, Giot JP, Honfo-Ga C, Rohan J, Lapierre F, Maixent JM 2009. «Applications énergétiques: Na/K-ATPase et transmission neuromusculaire», *Neurochirurgie*, 55S, pp. S92-S103.
Robertson AM, Bird CC, Waddell AW, Currie AR 1978. «Morphological aspects of glucocorticoid induced cell death in human lymphoblastoid cells», *Journal of Pathology*, 126(3), pp. 181-187.
Ross SE 2011. «Pain and itch: insights into the neural circuits of aversive somatosensation in health and disease», *Current Opinion in Neurobiology*, 21(6), pp. 880-887.
Sachs JR 1991. «Successes and failures of the Albers-Post model in predicting ion flux kinetics», *Society of General Physiologists series*, 46, pp. 249-266.
Sanders FK 1948. «The thickness of the myelin sheaths of normal and regenerating peripheral nerve fibres», *Proceedings of the Royal Society of London, series B*, 135 (880), pp. 323-357.
Schafer DP, Jha S, Liu F, Akella T, McCullough LD, Rasband MN 2009. «Disruption of the axon initial segment cytoskeleton is a new mechanism for neuronal injury», *Journal of Neuroscience*, 29(42), pp. 13242-13254.
Scheiner-Bobis G 2002. «The sodium pump, it's molecular properties and mechanics of ion transport», *European Journal of Biochemistry*, 269, pp. 2424-2433.
Schwarz JR, Reid G, Bostock H 1995. «Action potentials and membrane currents in the human node of Ranvier», *European Journal of Physiology*, 430, pp. 283-292.
Sebbagh M, Renvoizé C, Hamelin J, Riché N, Bertoglio J, Bréard J 2001. « Caspase-3-mediated cleavage of ROCK I induces MLC phosphorylation and apoptotic membrane blebbing», *Nature Cell Biology*, 3, pp. 346-352.
Sen AK & Post RL 1964. «Stoichiometry and Localization of Adenosine Triphosphate-dependent Sodium and Potassium Transport in the Erythrocyte», *Journal of Biological Chemistry*, 239(1), pp. 345-352.

Shankarappa SA, Tsui JH, Kim KN, Reznor G, Dohlman JC, Langer R, Kohane DS 2012. «Prolonged nerve blockade delays the onset of neuropathic pain», *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(43), pp. 17555-17560.
Sheen K & Chung JM 1993. «Signs of neuropathic pain depend on signals from injured nerve fibers in a rat model», *Brain Research*, 610, pp. 62-68.
Sheetz MP, Sable JE, Döbereiner HG 2006. «Continuous membrane-cytoskeleton adhesion requires continuous accommodation to lipid and cytoskeleton dynamics», *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 35, pp. 417-434.
Shirahata E, Iwasaki H, Takagi M, Lin C, Bennett V, Okamura Y, Hayasaka K 2006. «Ankyrin-G regulates inactivation gating of the neuronal sodium channel, Nav1.6», *Journal of Neurophysiology*, 96, pp. 1347-1357.
Simons K & Ehehalt R 2002. «Cholesterol, lipid rafts and disease», *Journal of Clinical Investigation*, 110(5), pp. 597-603.
Skou JC 1957. «The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves», *Biochimica et biophysica acta*, 23, pp. 394-401.
Skou JC 1974. «The (Na^+ + K^+) activated enzyme system and its relationship to transport of sodium and potassium», *Quarterly Reviews of Biophysics*, 7, pp. 401-434.
Smith DH, Hicks R, Povlishock JT 2013. «Therapy development for diffuse axonal injury», *Journal of Neurotrauma*, 30(5), pp. 307-323.
Stein RB, Gossen ER, Jones KE 2005. «Neuronal variability: noise or part of the signal?», *Nature Reviews Neuroscience*, 6, pp. 389-397.
Sun GC, Werkman TR, Wadman WJ 2006. «Kinetic changes and modulation by carbamazepine on voltage-gated sodium channels in rat CA1 neurons after epilepsy», *Acta Pharmacologica Sinica*, 27(12), pp. 1537-1546.
Susuki K 2013. «Node of Ranvier disruption as a cause of neurological diseases», *ASN Neuro*, 5(3), pp. 209-219.
Taddese A & Bean BP 2002. «Subthreshold sodium current from rapidly inactivating sodium channels drives spontaneous firing of tuberomammillary neurons», *Neuron*, 33(4), pp. 587-600.
Tal M, Wall PD, Devor M 1999. «Myelinated afferent fiber types that become spontaneously active and mechanosensitive following nerve transection in the rat», *Brain Research*, 824, pp. 218-223.
Tinevez JY, Schulze U, Salbreux G, Roensch J, Joanny JF, Paluch E 2009. «Role of cortical tension in bleb growth», *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(44), pp. 18581-18586.
Tokumitsu T & Maramorosch K 1967. «Cytoplasmic protrusions in insect cells during mitosis in vitro», *Journal of Cell Biology*, 34(2), pp. 677-683.
Toyoshima C, Kanai R, Cornelius F 2011. «First crystal structures of Na,K-ATPase: New light on the oldest ion pump», *Structure*, 19, pp. 1732-1838.
Tremblay C, Berret E, Henry M, Nehmé B, Nadeau L, Mouginot D 2011. «Neuronal sodium leak channels is responsible for the detection of sodium in the rat median preoptic nucleus», *Journal of Neurophysiology*, 105, pp. 650-660.
Truini A & Cruccu G 2006. «Pathophysiological mechanisms of neuropathic pain», *Neurological Science*, 27, pp. S179-S182.
Vasseur DA & Fox JW 2009. «Phase-locking and environmental fluctuations generate synchrony in a predator–prey community», *Nature*, 460(7258), pp. 1007-1010.

Victor JD & Purpura KP 1996. «Nature and precision of temporal coding in visual cortex: a metric-space analysis», *Journal of Neurophysiology*, 76(2), pp. 1310-1326.
Vik A, Kvistad KA, Skandsen T, Ingebrigtsen T 2006. «Diffuse axonal injury in traumatic brain injury». *Tidsskrift for den Norske Laegeforening* 126 (22), pp. 2940-2944 (seul l'abrégé est en anglais).
Villalba-Galea CA, Sandtner W, Starace DM, Bezanilla F 2008. «S4-based voltage sensors have three major conformations», *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(46), pp. 17600-17607.
Volman V, Bazhenov M, Sejnowski TJ 2012. «Computational models of neuron-astrocyte interaction in epilepsy», *Frontiers in computational neuroscience*, 6, p. 58.
Volman V & Ng LJ 2013. «Computer modeling of mild axonal injury: Implications for axonal signal transmission», *Neural Computation*, 25(10), pp. 2646-2681.
Vucic S, Kiernan MC 2006. «Novel threshold tracking techniques suggest that cortical hyperexcitability is an early feature of motor neuron disease». *Brain*, 129(9), pp. 2436-2446.
Wang JA, Lin W, Morris T, Banderali U, Juranka PF, Morris CE 2009. «Membrane trauma and Na^+ leak from Nav1.6 channels», *American Journal of Physiology*, 297, C823.
Wolf JA, Stys PK, Lusardi T, Meaney D, Smith DH 2001. «Traumatic axonal injury induces calcium influx modulated by tetrodotoxin-sensitive sodium channels», *Journal of Neuroscience*, 21, pp. 1923-1930.
Xia M, Liu H, Li Y, Yan N, Gong H 2013. «The mechanism of Na^+/K^+ selectivity in mammalian voltage-gated sodium channels based on molecular dynamics simulation», *Biophysical Journal*, 104, pp. 2401-2409.
Xie W, Strong JA, Ye L, Mao JX, Zhang JM 2013. «Knockdown of sodium channel $Na_V1.6$ blocks mechanical pain and abnormal bursting activity of afferent neurons in inflamed sensory ganglia», *Pain*, 154, pp. 1170-1180.
Yaragatupalli S, Olivera JF, Gatto C, Artigas P 2009. «Altered Na^+ transport after an intracellular α-subunit deletion reveals strict external sequence release of Na^+ from the Na/K pump», *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(36), pp. 15507-15512.
Yu FH & Catterall WA 2003. «Overview of the voltage-gated sodium channel family», *Genome Biology*, 4, 207.
Yu N, Morris CE, Joós B, Longtin A 2012. «Spontaneous excitation patterns computed for axons with injury-like impairments of sodium channels and Na/K pumps», *PLoS Computational Biology*, 8(9), e1002664.
Young RG, Castelfranco AM, Hartline DK 2013. «The "Lillie Transition": models of the onset of saltatory conduction in myelinating axons», *Journal of Computational Neuroscience*, 34(3), pp. 533-546.
Zheng H, Liu W, Anderson LY, Jiang QX 2011. «Lipid-dependent gating of a voltage-gated potassium channel», *Nature Communications*, 2, 250.
Kennedy CA, Carpenter MH, Lewis RM 1999. «Runge-Kutta methods for linear ordinary differential equations», *Applied Numerical Mathematics*, 31, pp. 227-238.

<u>Autres</u>
Bohan M 2005. *outreach.mcb.harvard.edu/animations/actionpotential_short.swf*

Boucher PA 2011. *Stress driven changes in the kinetics of bilayer embedded proteins: a membrane spandex and a voltage-gated sodium channel*, thèse de doctorat en physique, université d'Ottawa, 147 p.
Chander BS & Chakravarthy VS 2013. «A biophysical model of neuro-glial-vascular interactions» *in Advances in Cognitive Neurodynamics (III),* Springer Netherlands (pp. 69-75).
Crippen DW 2012. «Head trauma», *emedicine.medscape.com/article/433855*
French RJ 1974. «Finite Difference Methods for the Numerical Solution of the Nernst-Planck-Poisson Equations» in *Mathematical Problems in Biology*, Springer Berlin Heidelberg (pp. 50-61).
GeneEd Inc 2008. *youtube.com/watch?v=nrTDY-SzQ7E*
Graven L 2013. *youtube.com/watch?v=-b32g7GG_AM*
L'Heureux I 2012. Notes du cours *Physique numérique I*, Université d'Ottawa.
Loeser JD *et al* 2011. «International Association for the Study of Pain (IASP) Taxonomy», *www.iasp-pain.org/Content/NavigationMenu/GeneralResourceLinks/PainDefinitions/*
Morris CE 2012b. «Bleb-injured membranes: leaky Na_V channels (conférence projetée à Wright State University en novembre 2012)», 42 p.
Okur N *et al* 2013. *dnatube.com/video/1105/Understanding-Action-Potential-and-Nerve-Impulses*
Povlishock JT & Pettus EH 1996. «Traumatically induced axonal damage: evidence for enduring changes in axolemmal permeability with associated cytoskeletal change» *in Mechanisms of Secondary Brain Damage in Cerebral Ischemia and Trauma*, Springer Vienna (pp. 81-86).
Proulx C 2011. *youtube.com/watch?v=WjYiwVZBN8E*
Ranjan R, Schuermann F, Markram H *et al* 2013. *channelpedia.net*
Ruiz M 2007. *commons.wikimedia.org/wiki/File:Cell_membrane_detailed_diagram_fr.svg*
Stein W 1986. *Transport and diffusion across cell membranes*, en ligne via Elsevier.
Weckström M 2010. «Intracellular recording», *Scholarpedia*, 5(8), p. 2224.
Wikipedia 2013. *Potentiel d'action*, *fr.wikipedia.org/wiki/Potentiel_d'action*

Index

Cet index répertorie les termes importants du chapitre 1, du chapitre 3 et des trois appendices. Au moment où ils sont introduits ou définis dans le texte, tous les termes techniques y apparaissent en ***gras*** *(ou servent de titre à une équation). Les numéros de page présentés ici sont seulement ceux correspondant à ces endroits où le terme est introduit ou défini. Exceptionnellement, quand un terme est défini à la fois dans un chapitre et dans un appendice, deux numéros de page apparaissent.*

Appendice A : points-clé de dynamique non linéaire

Dans cet appendice, qui complète le chapitre 1, nous définissons quelques termes et quelques concepts de la dynamique non linéaire. Notre objectif n'est pas de fournir une introduction complète à ce très vaste sujet, mais plutôt un rappel concis, assorti d'exemples tirés des neurosciences. Le lecteur qui souhaite une introduction à la dynamique non linéaire pourra consulter Strogatz 1994, où il trouvera tous les concepts présentés dans cet appendice, mais sans la saveur de neurosciences.

AppA.1 Qu'est-ce que la dynamique non linéaire ?

Les bacheliers en physique ont tous reçu une formation de base pour solutionner des équations différentielles linéaires. Une telle équation est dite **linéaire** quand elle a la forme :

$$F(x) = a_0(x)y(x) + a_1(x)\frac{\mathrm{d}}{\mathrm{d}t}y(x) + a_2(x)\frac{\mathrm{d}^2}{\mathrm{d}t^2}y(x) + \ldots \qquad \text{(équation AppA.1)}$$

Ses solutions $y(x)$ ont alors la propriété remarquable d'être **superposables** : si $y_1(x)$ et $y_2(x)$ sont toutes deux solutions de l'équation AppA.1, alors $k_1y_1(x) + k_2y_2(x)$ est aussi une solution. Cette propriété permet de fractionner des problèmes imposants en problèmes plus petits. Par exemple, une technique standard consiste d'abord trouver une solution générale à l'équation AppA.1 quand $F(x) = 0$, ensuite rechercher une solution particulière qui tient compte de $F(x)$, puis à additionner les deux.

Une autre propriété des équations différentielles linéaires est qu'une petite perturbation (par exemple à l'une des fonction $a_i(x)$, à la fonction $F(x)$ ou encore à la valeur initiale de y) a pour effet de produire un petit changement dans la solution $y(x)$.

Toute équation qui n'a pas la forme de l'équation AppA.1 est dite **non linéaire**. Ces équations sont souvent impossibles à solutionner analytiquement et leur solution est difficile à obtenir quand elle peut l'être. Leur comportement est cependant plus riche. Nous avons déjà dit, au chapitre 1, qu'une membrane non excitable a un potentiel de membrane $V(t)$ décrit par une équation linéaire alors qu'une membrane excitable a un comportement non linéaire. C'est un bel exemple de la richesse des équations non linéaires. En outre, une petite perturbation de V produit une réponse proportionnée dans le cas d'une membrane linéaire, mais peut produire des variations nettement plus grandes que la perturbation dans le cas d'une membrane non linéaire.

La **dynamique non linéaire** est simplement la branche des mathématiques qui étudie les équations non linéaires. Puisque ces dernières sont difficiles à attaquer analytiquement, la dynamique non linéaire s'intéresse davantage au comportement qualitatif des solutions (tendre vers une limite, osciller périodiquement, varier de façon chaotique, etc.) qu'à leur expression analytique. Elle s'intéresse aussi à l'effet des paramètres (comme les fonctions $a_i(x)$ dans l'équation AppA.1), qui peuvent faire *bifurquer* le comportement de la solution entre plusieurs de ces possibilités qualitatives.

AppA.2 Espace de phase

Pour étudier les solutions de façon qualitative, la dynamique non linéaire a beaucoup recours à la représentation dans l'**espace de phase** (aussi appelé *plan de phase* s'il y a seulement deux variables dynamiques). D'ailleurs, cette représentation convient aussi pour les équations linéaires.

Pour représenter une équation différentielle d'ordre *N* dans un espace de phase, on doit d'abord appliquer une *réduction d'ordre*. En général, toute équation d'ordre *N* peut être convertie en *N* équations d'ordre 1 de la forme $\dot{y} = f(y)$, collectivement décrite par l'équation vectorielle $\dot{\vec{y}} = f(\vec{y})$. Par exemple, l'oscillateur harmonique simple $\ddot{x} + \frac{k}{m}x = 0$ peut être converti en $\dot{v} + \frac{k}{m}x = 0$ et $\dot{x} = v$. Au terme de cette opération, chaque axe de l'espace de phase correspond à une variable dynamique (ici, *x* et *v*) dont l'évolution est décrite par une équation différentielle d'ordre 1.

Pour obtenir des trajectoires immobiles dans l'espace de phase, on s'assure aussi que les membres de droite de ces équations différentielles ne contiennent aucune dépendance temporelle. Si c'est le cas, on peut ajouter une équation additionnelle $\dot{t} = 1$ et considérer le temps comme une variable dynamique identique aux autres. Cela a pour conséquence qu'une nomenclature légèrement différente est utilisée en dynamique non linéaire : par exemple, une équation différentielle non homogène d'ordre 2 (comme un oscillateur harmonique forcé par une fonction dépendante du temps) sera convertie en un système dynamique d'ordre 3 (où les trois variables dynamiques seraient *x*, *v* et *t*).

Une solution $\vec{y}(t)$ décrit une *trajectoire* dans l'espace de phase et sa valeur à un instant donné, un point dans l'espace de phase, est dite *point de phase*. En représentant plusieurs trajectoires côte à côte, on peut examiner visuellement et rapidement un grand nombre de solutions, en accordant notre attention à leur comportement qualitatif plutôt qu'aux valeurs exactes des points par lesquelles les trajectoires passent.

En terminant, soulignons qu'un outil utile, particulièrement dans le plan de phase, consiste à tracer les **nullclines**, c'est-à-dire les courbes qui réunissent les points où l'une des dérivées du système d'équation est nulle. Par exemple, dans le cas d'un oscillateur harmonique, il y a deux nullclines : la première le long de laquelle $\dot{x} = 0$ et la seconde le long de laquelle $\dot{v} = 0$. L'utilité des nullclines est de subdiviser le plan de phase en zones à l'intérieur desquelles la dérivée de chaque variable a partout le même signe.

AppA.3 Point fixe, cycle limite ou autres

Nous allons maintenant présenter les comportements qualitatifs les plus fréquents que peut rencontrer un système d'équations linéaires.

Point fixe. Considérons une équation $\dot{y} = f(y)$ ou, de façon plus générale, un système d'équations $\dot{\vec{y}} = f(\vec{y})$. On appelle **point fixe** $\vec{y}\,*$ une valeur de la solution telle que

$f(\vec{y}^*) = 0$. Cela signifie que, dans l'espace de phase, une trajectoire qui débute en ce point demeure en ce point à tout jamais. Tous les systèmes dynamiques d'ordre 1 ou plus peuvent comporter des points fixes. Par définition, les points fixes sont des points où tous les nullclines se rencontrent.

Un oscillateur amorti possède un unique point fixe, c'est-à-dire l'immobilité à la position d'équilibre. Un pendule amorti formé d'une bille soudée à une tige rigide possède deux points fixes : la tige est en effet à l'équilibre quand elle est verticale, que la bille soit au point le plus bas ou qu'elle soit au point le plus haut.

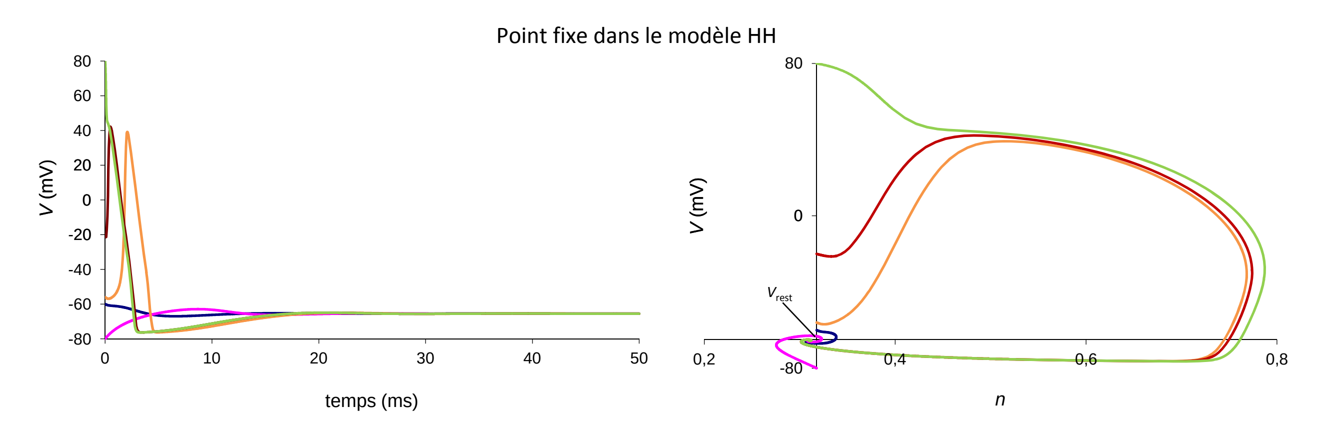


Figure AppA.1 Avec les paramètres habituels, le modèle HH comporte un unique point fixe attractif, l'état de repos. Quelle que soit la condition initiale, il y retourne. La série temporelle (gauche) montre que le point fixe correspond à $V = -65{,}5$ mV alors que le plan de phase correspondant (droite) montre aussi la valeur de repos pour *n*, soit 0,3177.

Dans le modèle HH, les valeurs de repos de *V*, *m*, *h* et *n* constituent un point fixe du modèle. En effet, en l'absence de stimulation, de dommage (CLS) ou de diminution des ratios de concentrations ioniques, le système retourne vers sa valeur de repos quelles que soient les conditions initiales. La **figure AppA.1** illustre ce point fixe grâce à une série temporelle de l'une des quatre variables du modèle, soit *V*, ainsi qu'avec un plan de phase illustrant deux des variables, *V* et *n*. Dans la série temporelle, le point fixe est une asymptote horizontale ; dans le plan de phase, il est un point.

Stabilité dynamique. Quand la trajectoire est *sur* le point fixe, elle y demeure, mais on peut se demander ce qui arrive si elle s'en éloigne légèrement. On distingue alors deux cas : dans celui d'un point fixe qui est **stable** dynamiquement, la trajectoire est à nouveau attirée au point fixe ; en revanche, dans le cas d'un point fixe **instable**, l'écart entre la trajectoire et le point fixe est amplifié. Le cas du modèle HH ou de l'oscillateur amorti comprennent des points fixes stables, alors que l'exemple du pendule comporte à la fois un point fixe stable (l'équilibre où la bille est en bas) et un point fixe instable (l'équilibre où la bille est en haut). Soulignons qu'un point fixe stable est un exemple d'**attracteur**.

Pour déterminer la stabilité d'un point fixe, une méthode indicative est de procéder à l'intégration numérique des équations (voir l'appendice C). Cependant, une intégration numérique n'est pas une preuve. Pour démontrer hors de tout doute qu'un point fixe est

stable, on peut **linéariser** le système d'équations à proximité du point fixe. Pour ce faire, on pose $\vec{\eta} = \vec{y} - \vec{y}\,^*$, on substitue dans le système d'équations et, en tenant compte du fait que l'écart au point fixe est faible, on néglige tous les termes où $\vec{\eta}$ est affecté d'un exposant supérieur à 1. On obtient ainsi un système d'équations linéaires dont les valeurs propres indiquent le comportement à long terme : si les valeurs propres sont toutes négatives (ou que leurs parties réelles sont toutes négatives), alors $\vec{\eta}$ tend vers zéro et le point fixe est stable. Dès qu'une des valeurs propres est positives (a une partie réelle positive), le point fixe est instable. (La présence éventuelle d'une partie imaginaire signifie seulement que la solution oscille en tournant autour du point fixe, tout en s'en approchant ou en s'en éloignant.)

Cycle limite. Les systèmes dynamiques d'ordre 1 se distinguent essentiellement par la présence ou l'absence de points fixes. Considérons maintenant un système dynamique $\dot{\vec{y}} = f(\vec{y})$ qui est au moins d'ordre 2. Un comportement supplémentaire qui devient alors disponible est celui du **cycle limite**.

Un cycle limite est une trajectoire fermée, sur laquelle le point de phase se déplace de façon périodique. Par contre, toute trajectoire périodique ne constitue pas forcément un cycle limite, puisque ce dernier doit absolument être attractif (c'est-à-dire que toutes les trajectoires voisines y tendent quand $t \to \infty$, donc qu'il est dynamiquement *stable*) ou répulsif (c'est-à-dire que toutes les trajectoires voisines y tendent quand $t \to -\infty$). Ainsi, toute perturbation d'une trajectoire située sur un cycle limite est soit amplifiée, soit amortie.

Un cycle limite peut correspondre à un système autonome mais aussi à un système qui subi un forçage externe périodique. Le modèle HH présente plusieurs exemples du premier cas. D'abord, il comporte un cycle limite quand on lui ajoute un courant de biais constant. C'est aussi le cas, en l'absence de stimulation, si on diminue significativement le gradient de concentration d'ions K^+ en approchant E_K de zéro (voir la figure 4.S1, au chapitre 4). C'est aussi le cas, évidemment, si on applique un CLS, ce qui est l'objet d'une bonne partie de nos travaux de recherche. La **figure AppA.2** illustre un cycle limite dans le modèle HH, obtenu en injectant un courant de biais.

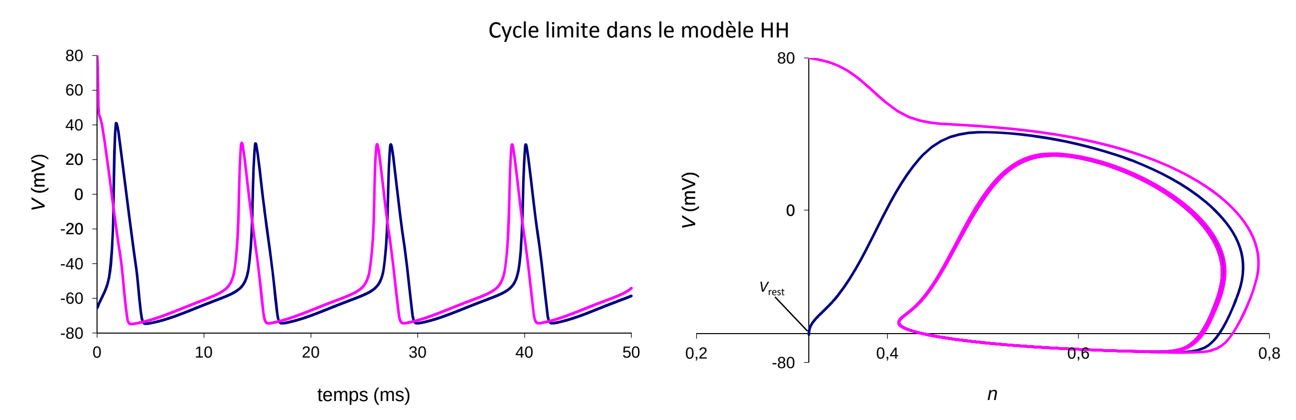


Figure AppA.2 Le modèle HH présente un cycle limite notamment quand on y ajoute un courant de biais (ici 15 μA/cm²). Notez qu'il est très attractif : la trajectoire l'atteint avant même d'avoir fait un tour complet autour.

Un exemple de cycle limite stable dans un système forcé est la trajectoire décrite par un pendule comme celui d'une horloge grand-père : en effet, ce pendule est à la fois amorti et forcé périodiquement, de sorte que son mouvement est périodique et reprend même si on le perturbe. En revanche, un oscillateur harmonique simple ne décrit *pas* un cycle limite, car une perturbation ne serait ni amortie ni amplifiée : elle fixerait plutôt une nouvelle amplitude au mouvement, qui se maintiendrait par la suite. Soulignons, en terminant, qu'un cycle limite stable est un autre exemple d'un *attracteur*.

Trajectoire homoclinique. En plus du point fixe et du cycle limite, un système dynamique à au moins deux dimensions peut présenter une **trajectoire homoclinique**, c'est-à-dire une trajectoire fermée mais non périodique, qui débute et se termine à un même point fixe. Au chapitre 1, nous avons mentionné que les solutions de l'équation du câble qui correspondent à des potentiels d'action doivent être des trajectoires homocliniques. En effet, elles débutent et se terminent au même point fixe, l'axone au repos.

Pour qu'une trajectoire homoclinique puisse débuter et se terminer à un point fixe, ce dernier doit respecter une condition : il doit comporter une **variété instable** et une **variété stable**. On nomme ainsi les trajectoires 1D qui conduisent au point fixe respectivement quand $t \to \infty$ et quand $t \to -\infty$; par opposition aux autres trajectoires, tout point de phase qui débute sur une des deux variétés demeure sur la variété. Un point fixe qui comporte à la fois une variété stable et une variété instable est dit **point-selle**.

Pour vérifier si un point fixe est bel et bien un point-selle, on peut linéariser le système dynamique à proximité de lui. Le système ainsi linéarisé doit comporter un vecteur propre instable (que la trajectoire homoclinique emprunte quand elle quitte et qui forme le début de la variété instable) et un vecteur propre stable (vers lequel la trajectoire homoclinique tend quand elle revient et qui forme la fin de la variété stable).

L'existence d'un point-selle est une condition nécessaire, mais n'est malheureusement pas une condition suffisante pour qu'une trajectoire homoclinique existe. L'intégration numérique, par exemple en utilisant la *méthode du tir*, s'avère alors un outil précieux, qui n'est cependant pas pertinent pour nos travaux.

Chaos. Si le système dynamique comporte au moins trois dimensions, un autre comportement devient disponible, celui du **chaos**. On appelle ainsi tout comportement apériodique dont l'évolution est très sensible aux conditions initiales. Quand on applique à une membrane décrite par le modèle HH une stimulation périodique à une fréquence excessive, cette membrane ne peut décharger à chaque stimulation. Augmenter la fréquence ou l'amplitude de la stimulation peut produit un **doublement de période**, c'est-à-dire que le système continue d'avoir un comportement périodique, mais que ce dernier est composé de la répétition d'une séquence de deux potentiels d'action successifs qui sont quantitativement différents. Continuer d'augmenter la fréquence et l'amplitude de la stimulation produit une succession de tels doublements de période, où un pattern de quatre potentiels d'action différents est répété, puis huit, puis seize, jusqu'à ce que la période tende vers l'infini et que le comportement du système devienne complètement apériodique. C'est ce qu'on appelle la *route du doublement de période vers le chaos*.

Il faut noter que le chaos n'exclut pas l'existence d'un attracteur, au contraire : l'évolution d'un système chaotique n'est pas purement aléatoire. En effet, à partir de conditions initiales quelconques, on observe que les trajectoires tendent vers un attracteur dit *étrange*, c'est-à-dire un objet qui a une dimension fractale. En raison de la dimension fractale de cet attracteur, une trajectoire peut demeurer indéfiniment sur lui sans jamais devenir périodique.

Bistabilité. Enfin, il faut noter que l'espace de phase d'un système dynamique peut contenir simultanément plus d'un attracteur. C'est le cas, par exemple, quand un cycle limite cohabite avec un point fixe et que tous deux sont dynamiquement stables. Selon les conditions initiales, une trajectoire va donc évoluer vers l'un ou vers l'autres des deux attracteurs. On est alors en présence de **bistabilité** (ou de multistabilité).

Toutes les conditions initiales où débutent les trajectoires qui tendent vers un même attracteur forment, dans l'espace de phase, une zone bien délimitée qu'on appelle un **bassin d'attraction**. La limite entre deux bassins d'attraction peut être, par exemple, la variété stable d'un point-selle.

En présence de CLS d'une amplitude bien choisie, il a été montré dans Yu 2012 que le modèle HH à six dimensions que nous utilisons au chapitre 4 présente une bistabilité : l'espace de phase est séparé en deux bassins d'attraction : l'un qui conduit le système vers son point fixe, l'autre qui le conduit vers un cycle limite.

AppA.4 Un mot sur les bifurcations

Un large pan de la dynamique non linéaire est l'étude de l'effet des paramètres sur la nature du comportement obtenu. Quand la variation d'un ou de plusieurs paramètres fait apparaître ou disparaître des points fixes ou des cycles limites, ou encore qu'elle en modifie la stabilité dynamique, on dit qu'il se produit une **bifurcation**.

Il existe un grand nombre de bifurcations, dont nous allons citer un seul exemple pertinent pour nos travaux. Il s'agit de la **bifurcation de Hopf**, au cours de laquelle un point fixe se transforme en cycle limite. Un des cas les plus simples de systèmes qui présentent ce type de bifurcation est, en coordonnées polaires :

$$\begin{cases} \dot{r} = \mu r - r^3 = r(\mu - r^2) \\ \dot{\theta} = 1 \end{cases}$$ (équation AppA.2)

où μ est un paramètre. On voit facilement que, pour $\mu < 0$, dr/dt est toujours négatif, donc que toute trajectoire tend vers l'origine, qui est alors un point fixe. En revanche, pour $\mu > 0$, dr/dt demeure négatif si r est grand, mais devient positif pour toute valeur de $r < \mu^{1/2}$. En somme toutes les trajectoires tendent vers une trajectoire circulaire de rayon $\mu^{1/2}$, c'est-à-dire un cycle limite. On dit qu'une bifurcation de Hopf se produit quand $\mu = 0$.

Le modèle HH comporte de nombreux paramètres qui peuvent ainsi modifier son comportement. Par exemple, un faible courant de biais ne fait que déplacer le point fixe,

mais l'augmentation de ce courant de biais au delà d'un certain seuil provoque une bifurcation de Hopf : le point fixe stable devient un cycle limite stable. En d'autres termes, la situation de la figure AppA.1 devient celle de la figure AppA.2. Un résultat similaire est obtenu, en l'absence de stimulation, si le paramètre E_K s'approche de zéro (voir la figure 4.S1, au chapitre 4). Dans la figure 4.2, c'est un forçage externe qui réduit E_K jusqu'à ce que cette bifurcation se produise.

AppA.5 Verrouillage de phase

Enfin, un concept de la dynamique non linéaire qui joue un rôle central dans nos travaux est celui de **verrouillage de phase**. Ce phénomène peut survenir quand deux oscillateurs sont reliés par un couplage non linéaire. Sans ce couplage, ils oscilleraient à leurs fréquences respectives f_1 et f_2 mais, en raison du couplage l'une des fréquences ou les deux fréquences s'ajustent de façon à former un ratio de petits nombres entiers.

Strogatz donne un exemple simple de verrouillage de phase, où deux coureurs parcourent une piste circulaire en tentant d'ajuster leur rythme l'un à l'autre. Leur position augulaire évolue selon :

$$\begin{cases} \dot{\theta}_1 = \omega_1 + K_1 \sin(\theta_2 - \theta_1) \\ \dot{\theta}_2 = \omega_2 + K_2 \sin(\theta_1 - \theta_2) \end{cases} \qquad \text{(équation AppA.3)}$$

Clairement, si les couplage est nul ($K_1 = K_2 = 0$), les deux coureurs ont des fréquences de révolution, ω_1 et ω_2, indépendante l'une de l'autre. En revanche, si $K_{1,2} > 0$, le verrouillage de phase devient possible. Pour le voir facilement, on définit la différence de phase $\phi = \theta_1 - \theta_2$ et on substitue l'équation AppA.3, ce qui donne :

$$\dot{\phi} = (\omega_1 - \omega_2) - (K_1 + K_2)\sin(\phi) \qquad \text{(équation AppA.4)}$$

Le membre de droite de l'équation présente deux zéros si la condition $\left|\omega_1 - \omega_2\right| < K_1 + K_2$ est respectée. L'un de ces deux zéros est un point fixe stable, vers lequel le système évolue. Quand il l'a atteint, les deux fréquences sont égales et la différence de phase, non nulle, est constante.

La seule possibilité de verrouillage de phase admise par l'équation AppA.3 est cependant celle où les fréquences de révolution sont dans un ratio 1:1. Un cas plus riche présente au moins une portion d'une **suite de Farey**. Cette séquence est une suite de rapports de petits nombres entiers, formée en insérant un par un des termes de dénominateur plus élevé, tel que leur numérateur et leur dénominateur sont formés respectivement des sommes des numérateurs et des dénominateurs des voisins immédiats entre lesquels ils sont insérés. À titre illustratif, voici les suites de Farey d'ordre 1 à 3 :

F1 : 0:1 et 1:1
F2 : 0:1, 1:2 et 1:1
F3 : 0:1, 1:3, 1:2, 2:3 et 1:1

En pratique, plus les termes ont un dénominateur élevé, plus la portion de l'espace des paramètres où leur observation est possible est restreinte.

On note que le phénomène de verrouillage de phase peut aussi se produire entre un oscillateur et un système excitable qui, bien qu'il n'oscillerait pas en l'absence de couplage, est forcé (par l'oscillateur auquel il est couplé) d'aquérir un comportement périodique. Feingold 1988 a étudié ce phénomène dans le cas d'oscillateurs de Van der Pol. Les ratios de fréquence des deux oscillations présentent alors des points communs importants avec ceux de deux oscillateurs couplés (**figure AppA.3**).

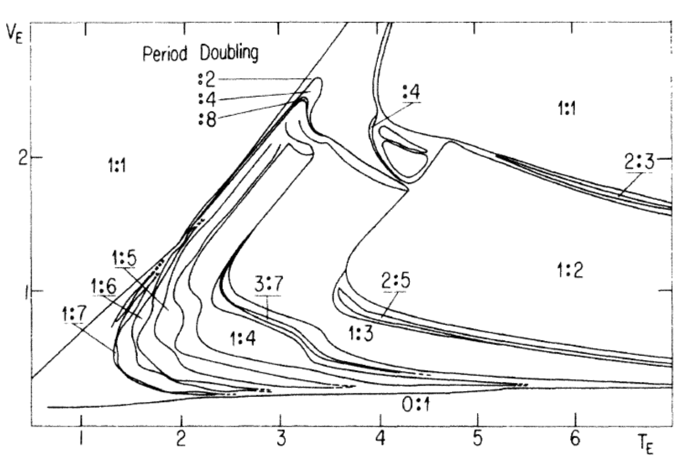


Figure AppA.3 Un oscillateur de Van der Pol stimulé avec la période T_E par une discontinuité d'amplitude V_E présente des verrouillages de phase suivant une suite de Farey.

Puisque le modèle HH est lui aussi un système excitable, on obtient un diagramme très similaire à celui de la figure AppA.3 quand on le stimule avec le même mode de stimulation.

Les exemples biologiques de verrouillage de phase abondent, qu'on pense aux lucioles de l'Asie du sud-est qui s'illuminent de façon synchronisée et aux criquets qui chantent à l'unisson (Mirollo 1990), à la coordination des battements cardiaques, de la pression sanguine et du rythme respiratoire (Censi 2000) ou aux fluctuations de populations dans des systèmes proie-prédateur (Vasseur 2009).

Dans le cas de nos travaux, le phénomène ne s'arrête pas à la réponse du noeud #1 à la stimulation, dont nous avons déjà parlé : il touche aussi le couplage entre les noeuds de notre modèle d'axone (un verrouillage 1:1 doit être obtenu dans le système de contrôle, puisque ce dernier propage normalement aux autres noeuds tous les potentiels d'action produits au noeud #1), de même que le verrouillage entre le noeud #1 et le noeud produisant de l'activité ectopique, quand il est présent (un verrouillage 1:1 entre ces deux oscillateurs permet de minimiser l'infidélité de la transmission ; voir chapitre 4).

Appendice B : courants ioniques, potentiel de repos

Dans cet appendice, nous utilisons un modèle physique plus évolué pour obtenir des versions alternatives des équations 1.B2.4 et 1.B2.10, présentées au chapitre 1, soit le courant d'une espèce ionique et la prédiction du potentiel de repos. Nous débutons en utilisant ces outils différents pour démontrer l'équation de Nernst, qui donne le potentiel d'inversion d'une espèce ionique. Ces résultats ne sont pas nouveaux, mais présentés en complément de la mission introductive du chapitre 1.

AppB.1 Démonstration alternative de l'équation de Nernst

L'équation de Nernst (équation 1.B2.1) a été démontrée en employant le facteur de Boltzmann. Nous débutons cet appendice en fournissant une démonstration alternative de cette équation. Les équations sont tirées de Nelson 2008 (chap. 4).

Considérons une espèce ionique X en particulier, parmi celles qui sont présentes de part et d'autre d'une membrane. La traversée de la membrane par un ion dépend de la nature de cette dernière. Si la membrane est une bicouche pure, l'ion doit s'y solubiliser pour traverser ; on peut donc considérer cette bicouche comme un milieu homogène dans lequel règne un champ électrique uniforme dû au potentiel de membrane V. Si la membrane comporte des protéines de transport créant des «passages» hydrophiles permanents pour l'espèce ionique X, alors on peut quand même considérer que la traversée se fait en empruntant un milieu homogène, l'intérieur des «passages», dans lequel règne un champ électrique uniforme dû au potentiel de membrane. Dans ce qui suit, on considère donc un «milieu homogène» pouvant être l'un ou l'autre de ces deux cas. De plus, on choisit un axe des x parallèle au champ électrique.

Composante de diffusion. Quelle que soit la distribution spatiale de l'espèce ionique considérée, son **courant de diffusion** en chaque point x du milieu homogène est proportionnel au gradient de concentration en ce point et est dirigé en sens inverse de ce gradient. Selon la loi de Fick, la constante de proportionnalité est le coefficient de diffusion D, donc le «courant» de diffusion est donné par $-D\vec{\nabla}c$.

Cependant, la loi de Fick n'exprime pas une densité de courant électrique, en unités de charge par unité de surface et par seconde, mais bien d'une densité de courant de particules, en nombre de particules par unité de surface et par seconde. Pour obtenir le courant électrique de diffusion, il suffit de multiplier l'équation par la charge q portée par l'ion considéré. On obtient alors :

$$\vec{\mathbf{j}}_{\text{diff}} = -Dq\vec{\nabla}c \qquad \text{(équation AppB.1)}$$

Composante de conduction. D'autre part, le champ électrique exerce une force constante sur chaque ion. Du point de vue (microscopique) d'un ion, une solution aqueuse est extrêmement visqueuse. (Les physiciens comprendront que le nombre de Reynolds est infime.) Cela a deux conséquences : premièrement, on peut considérer que la force de frottement visqueux (traînée) subie par un nuage d'ions est proportionnelle à la vitesse de dérive de ce dernier, *frottement* = v_d/ζ. Deuxièmement, on peut considérer qu'un nuage

d'ions a une inertie négligeable (ma = 0 dans la seconde loi de Newton). Ainsi, un champ électrique constant cause une *dérive à vitesse constante*. La seconde loi de Newton impose donc que la force de frottement soit égale à la force externe exercée par le champ, d'où : $v_d = \zeta(frottement) = \zeta(qE)$. En somme le **courant de conduction** est

$$\vec{\mathbf{j}}_{\text{cond}} = cq\vec{\mathbf{v}}_{\text{d}} = \frac{cq^2}{\zeta}\vec{\mathbf{E}} \qquad \text{(équation AppB.2)}$$

Équation de Nernst. À l'équilibre, la somme de ces deux courants est nulle en chaque x, d'où $\frac{cq}{\zeta}\vec{\mathbf{E}} = D\vec{\nabla}c$. Cette équation peut se simplifier davantage si on tient compte de la relation d'Einstein, $D\zeta = k_B T$; elle devient $\frac{1}{k_B T}q\vec{\mathbf{E}} = \frac{1}{c}\vec{\nabla}c$. En utilisant l'axe des x parallèle au champ électrique, la situation est unidimensionnelle et on obtient l'équation différentielle :

$$\frac{1}{k_B T}qE_x = \frac{1}{c}\frac{\mathrm{d}c}{\mathrm{d}x} \qquad \text{(équation AppB.3)}$$

Il s'agit d'une équation différentielle séparable, qu'on solutionne en multipliant par dx et en intégrant, ce qui donne

$$\frac{1}{k_B T}q\int_{\text{ext}}^{\text{int}} E_x\ \mathrm{d}x = \int_{\text{ext}}^{\text{int}} \frac{\mathrm{d}c}{c} \qquad \text{(équation AppB.4)}$$

Ici, les bornes «int» et «ext» correspondent à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule, respectivement, mais pourraient techniquement représenter n'importe quel plan perpendiculaire au champ électrique.

Dans le membre de gauche de l'équation AppB.4, on reconnaît l'intégrale de ligne du champ électrique, qui correspond à l'inverse de la différence de potentiel, $-(V_{\text{int}} - V_{\text{ext}})$. On obtient donc l'équation de Nernst :

$$V_{\text{int}} - V_{\text{ext}} = -\frac{k_B T}{q}\ln\frac{c_{\text{int}}}{c_{\text{ext}}} \equiv E_X \qquad \text{(équation AppB.5)}$$

(Si on inverse cette équation, elle devient $c_{\text{int}} = c_{\text{ext}}\exp[-qE_X/k_B T]$, où le lecteur reconnaîtra le facteur de Boltzman que nous avons utilisé au chapitre 1 comme point de départ ; attention de ne pas confondre le potentiel de Nersnt, E_X, et la composante x du champ électrique dans le milieu homogène, E_x)

Rappelons que l'équation AppB.5 décrit la situation seulement une fois que l'équilibre est atteint. Si le milieu homogène décrit est une bicouche pure, l'atteinte de l'équilibre peut être excessivement long puisque très peu d'ions parviennent à se solubiliser dans un tel milieu.

Interprétation. L'équation AppB.5 décrit la situation à l'équilibre. Le courant de diffusion ne dépend que du gradient de concentration (membre de droite de l'équation), alors que le

courant électrique ne dépend que de la différence de potentiel (membre de gauche de l'équation). Qualitativement, l'équation AppB.5 peut donc être interprétée comme exprimant la différence de potentiel requise pour contrecarrer le courant de diffusion ou encore comme le rapport de concentrations requis pour contrecarrer le courant de conduction.

On peut aussi interpréter l'équation AppB.5 d'un point de vue énergétique : quand le potentiel de membrane V est égal au potentiel de Nernst donné par l'équation AppB.5, les ions traversent le milieu homogène avec des flux égaux dans les deux sens car ils n'expérimentent aucune variation d'énergie libre en traversant la membrane : par exemple, si un ion positif traverse dans le sens de la diminution de V et de l'augmentation de sa concentration, la baisse d'énergie potentielle électrique due à V est contrebalancée par un gain d'énergie libre dû à la diminution d'entropie.

Dépendance en x. Pour ce qui suivra, il est utile de décrire plus en détails la situation d'équilibre décrite par l'équation AppB.5. Si on change les bornes de l'équation AppB.4 pour que l'une d'elle soit une position x quelconque située dans le milieu homogène, on obtient que la concentration *dépend de x* et est donnée par :

$$c(x) = c_{\text{int}} \exp\left(\frac{qV}{Lk_{\text{B}}T}x\right) \qquad \text{(équation AppB.6)}$$

Par conséquent, le courant de diffusion donné par l'équation AppB.1 et le courant de conduction donné par l'équation AppB.2 dépendent eux aussi de x et sont, à l'équilibre, égaux à $\pm(DqV/k_{\text{B}}T)c(x)$. C'est leur somme, $J_{\text{X}} = 0$, qui est bel et bien une constante qui ne dépend pas de x.

AppB.2 Le courant d'une espèce ionique

Au chapitre 1, nous avons fourni l'équation $J_{\text{X}} = g_{\text{X}}(V - E_{\text{X}})$, c'est-à-dire l'équation 1.B2.4, qui permet de calculer le courant d'une espèce ionique lorsque cette dernière n'est pas à l'équilibre de Nernst. Par contre, nous avons alors fondé cette équation sur l'hypothèse grossière voulant que j_{diff} et j_{cond} étaient uniformes dans le milieu homogène, alors que nous venons de montrer qu'ils dépendent en fait de x. Nous allons maintenant utiliser le formalisme introduit ci-dessus pour revisiter cette équation et montrer qu'elle n'est valide qu'au premier ordre.

Tout d'abord, nous considérons que les équations AppB.1 et AppB.2 sont valides en général. On peut donc les additionner pour obtenir le courant électrique net au point x du milieu homogène :

$$\vec{\mathbf{J}}_{\text{X}} = \frac{cq^2}{\zeta}\vec{\mathbf{E}} - Dq\vec{\nabla}c \qquad \text{(équation AppB.7)}$$

En utilisant la relation d'Einstein, $D\zeta = k_{\text{B}}T$, cette équation devient :

$$\vec{\mathbf{J}}_{\text{X}} = D\left(\frac{cq^2}{k_{\text{B}}T}\vec{\mathbf{E}} - q\vec{\nabla}c\right) \qquad \text{(équation AppB.8)}$$

Puisque aucune charge ne peut s'accumuler durablement en un point x du milieu homogène, il est clair que le courant net traversant la membrane devient rapidement le même en chaque point x. Il s'en suit aussi que la concentration $c(x)$ cesse rapidement d'être une fonction du temps.

Si on projette l'équation AppB.8 sur l'axe des x perpendiculaire à la membrane, elle devient :

$$J_X = D\left(\frac{cq^2}{k_B T} E_x - q \frac{dc}{dx} \right) \qquad \text{(équation AppB.9)}$$

où nous laissons tomber l'indice x désignant la composante vectorielle du membre de gauche.

On peut utiliser la technique de séparation des variables et intégrer :

$$\int_{\text{int}}^{\text{ext}} \frac{dc}{\frac{cq}{k_B T} E_x - \frac{J_X}{qD}} = \int_{\text{int}}^{\text{ext}} dx \qquad \text{(équation AppB.10)}$$

d'où :

$$\frac{k_B T}{qE_x} \ln \frac{\frac{qE_x}{k_B T} c_{\text{ext}} - \frac{J_X}{qD}}{\frac{qE_x}{k_B T} c_{\text{int}} - \frac{J_X}{qD}} = L \qquad \text{(équation AppB.11)}$$

où on a supposé, dans le membre de droite, que l'axe des x était orienté de l'intérieur vers l'extérieur (sinon, on obtiendrait $-L$).

Si on suppose que la membrane contient peu de charges, alors E_x est une constante indépendante de x et on peut le relier au potentiel de membrane V en écrivant $E_x = V/L$ (avec notre choix pour le sens de l'axe x, V et E_x sont effectivement de même signe). Or, la membrane contient effectivement peu de charge quel que soit le cas de «milieu homogène» considéré : une bicouche pure contient fort peu d'ions en solution ; les «passages» hydrophiles occupent fort peu de volume dans la membrane.

En substituant $E_x = V/L$ et en isolant le courant (constant) J_X dans l'équation AppB.11, on trouve un résultat initialement démontré dans Goldman 1943 en utilisant essentiellement la même méthode que nous avons utilisé ci-dessus (voir aussi Hille 2001, chap. 14) :

Courant de Goldman-Hodgkin-Katz

$$J_X = \frac{q^2 DV}{Lk_B T} \frac{c_{\text{ext}} - c_{\text{int}} e^{\frac{qV}{k_B T}}}{1 - e^{\frac{qV}{k_B T}}} \qquad \text{(équation AppB.12)}$$

Avant de poursuivre, soulignons que cette équation est plus générale que l'équation $J_X = g_X(V - E_X)$ car elle est fondée sur moins d'hypothèses, la plus importante étant que le milieu traversé par les ions est homogène et que le champ électrique est uniforme dans la membrane.

L'équation AppB.12 s'applique raisonnablement bien aux membranes non excitables ou encore aux membranes excitables au repos. Une discussion des déviations entre la réalité et cette équation peut être trouvée dans Hille 2001 (chap. 15) ; elles découlent pour la plupart du fait que les canaux ioniques ne sont pas un simple «milieu homogène» et que les ions ne sont pas dépourvus d'interactions entre eux.

Dépendance en x. Comme nous l'avons fait pour le cas $J_X = 0$ décrit par l'équation AppB.5, nous pouvons obtenir $c(x)$ dans le cas décrit par l'équation AppB.12. Si on change les bornes de l'équation AppB.10 pour que l'une d'elle soit une position x quelconque située dans le milieu homogène, on obtient que la concentration est donnée par :

$$c(x) = c_{\text{int}}\, e^{\frac{qV}{Lk_BT}x} + \frac{Lk_BT}{qV}\frac{J_X}{qD}\left(1 - e^{\frac{qV}{Lk_BT}x}\right) \qquad \text{(équation AppB.13)}$$

Si on substitue l'équation AppB.12, cette équation devient :

$$c(x) = c_{\text{int}}\, e^{\frac{qV}{Lk_BT}x} + \frac{c_{\text{ext}} - c_{\text{int}} e^{\frac{qV}{k_BT}}}{1 - e^{\frac{qV}{k_BT}}}\left(1 - e^{\frac{qV}{Lk_BT}x}\right) \qquad \text{(équation AppB.14)}$$

Par conséquent, le courant de diffusion donné par l'équation AppB.1 et le courant de conduction donné par l'équation AppB.2 dépendent aussi de x. Ils sont respectivement égaux à

$$j_{\text{diff}} = D\frac{q^2V}{Lk_BT} e^{\frac{qV}{Lk_BT}x}\left[\frac{c_{\text{ext}} - c_{\text{int}}}{1 - e^{\frac{qV}{k_BT}}}\right] \qquad \text{(équation AppB.15)}$$

et

$$j_{\text{cond}} = D\frac{q^2V}{Lk_BT}\left[c_{\text{int}}\, e^{\frac{qV}{Lk_BT}x} + \frac{c_{\text{ext}} - c_{\text{int}} e^{\frac{qV}{k_BT}}}{1 - e^{\frac{qV}{k_BT}}}\left(1 - e^{\frac{qV}{Lk_BT}x}\right)\right] \qquad \text{(équation AppB.16)}$$

C'est la somme de ces deux courants, J_X, qui est bel et bien une constante qui ne dépend pas de x. On note que le courant de diffusion donné par l'équation AppB.15 dépend bel et bien de V, contrairement à l'hypothèse que nous avions faite au chapitre 1 pour obtenir l'équation approximative $J_X = g_X(V - E_X)$.

Cas limites. Nous allons maintenant étudier l'équation AppB.12 dans trois limites : quand V est très grand, quand il est très faible et quand il est proche de E_X.

Dans le cas où V tend vers l'infini négatif, les facteurs exponentiels dans l'équation AppB.12 deviennent nuls et on obtient alors :

$$\lim_{V \to -\infty} J_X = \frac{q^2 D c_{ext}}{L k_B T} V \qquad \text{(équation AppB.17)}$$

Par contre, quand V tend vers l'infini positif, c'est plutôt $e^{-\frac{qV}{k_B T}}$ qui devient nul, donc l'équation AppB.12 devient :

$$\lim_{V \to \infty} J_X = \frac{q^2 DV}{L k_B T} \frac{c_{ext} e^{-\frac{qV}{k_B T}} - c_{int}}{e^{-\frac{qV}{k_B T}} - 1} = \frac{q^2 D c_{int}}{L k_B T} V \qquad \text{(équation AppB.18)}$$

où le numérateur et le dénominateur de l'équation AppB.12 ont tous deux été multipliés par $e^{-\frac{qV}{k_B T}}$.

On note que ces deux premiers cas limites ont une forme linéaire en V, mais avec une pente différente. Ceci signifie que la conductance d'une espèce ionique est meilleure dans un sens que dans l'autre. Ce comportement n'est pas sans rappeler celui d'une diode e semi-conductrice, puisqu'il révèle une **rectification** : le courant s'écoule plus facilement dans un sens que l'autre. De plus, entre ces deux situations extrêmes, il y a nécessairement une transition où la courbe *J-V* n'est pas rectiligne.

Considérons donc, comme troisième cas limite, la situation intermédiaire où $\delta \equiv V - E_X << 1$. On vérifie par substitution directe au numérateur que l'équation AppB.12 donne effectivement $J_X = 0$ si $\delta = 0$, c'est-à-dire si V a exactement pour valeur le potentiel d'inversion E_X (donné par l'équation 1.B2.1 ou l'équation AppB.5). Toutefois, nous nous intéressons au cas où V est légèrement supérieur ou inférieur à E_X, sans y être nécessaire égal.

Avec la notation $\delta \equiv V - E_X$, le facteur $e^{-\frac{qV}{k_B T}}$ devient $e^{\frac{q\delta}{k_B T}} e^{\frac{qE_X}{k_B T}}$ ou encore, d'après l'équation AppB.5, $e^{\frac{q\delta}{k_B T}} \frac{c_{ext}}{c_{int}}$. En substituant ceci dans l'équation AppB.12, cette dernière équation devient :

$$J_X = \frac{q^2 DV}{L k_B T} \frac{c_{ext}}{1 - e^{\frac{qV}{k_B T}}} (1 - e^{\frac{q\delta}{k_B T}}) \qquad \text{(équation AppB.19)}$$

Jusqu'ici, nous n'avons fait aucune hypothèse supplémentaire alors l'équation AppB.19 est simplement une reformulation de l'équation AppB.12.

Toutefois, nous supposons maintenant que δ est petit, ce qui signifie que $e^{\frac{q\delta}{k_B T}} \approx 1+\frac{q\delta}{k_B T}$ et que $V \approx E_X$. En substituant ces deux idées dans l'équation AppB.19, on trouve notre troisième cas limite :

$$\lim_{V \to E_X} J_X = \frac{Dq}{L} \frac{\frac{qE_X}{k_B T}}{e^{\frac{qE_X}{k_B T}} - 1} c_{ext} \frac{q}{k_B T} \delta \qquad \text{(équation AppB.20)}$$

On note que ce résultat est proportionnel à $\delta = V - E_X$, comme c'était le cas dans l'équation 1.B2.4, $J_X = g_X(V - E_X)$. Cette dernière est donc valide au premier ordre, sur une plage limitée de valeurs.

La **figure AppB.1** compare ces trois limites (en noir) à la courbe de l'équation AppB.12 (en rouge) et illustre une méthode supplémentaire permettant d'étendre la validité de l'équation $J_X = g_X(V - E_X)$: elle consiste à éviter de choisir pour valeur de g_X la pente de l'équation AppB.20 et à opter plutôt pour une pente moyenne qui représente bien le comportement de l'équation AppB.12 sur la plage de valeurs de V typiquement rencontrées dans une situation biologique réelle donnée, tout en conservant un zéro à $V = E_X$ (Sterratt 2011, section 2.4). Cette approximation linéaire est en bleu sur la figure.

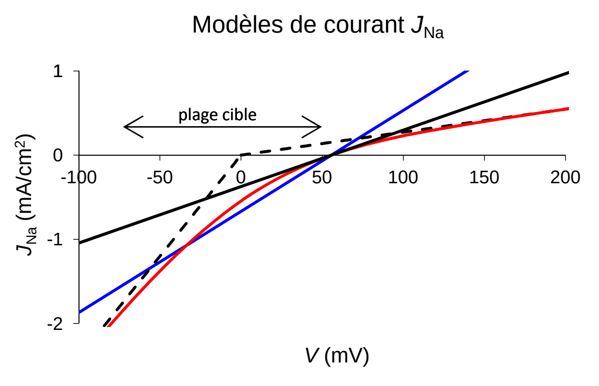


Figure AppB.1 L'approximation linéaire en bleu approche bien le courant GHK (en rouge), pour la plage de valeurs pertinentes pour une cellule excitables, indiquée par la double flèche. En noir : les limites données par les équations AppB.17, AppB.18 et AppB.20.

On peut déduire de leurs articles que c'est cette dernière approche que Hodgkin et Huxley ont utilisé pour modéliser chacun des courants dans le modèle qui porte leur nom. Puisque les pentes des cas limites (équations AppB.17 et AppB.18) ne sont pas excessivement éloignées l'une de l'autre dans le cas du sodium et du potassium, il a été supposé que l'équation $J_X = g_X(V - E_X)$ pouvait leur être appliquée. Ensuite, les g_X ont été déterminés expérimentalement *pour une large plage de valeurs de V* (Hodgkin 1952e). Il s'agit donc bel et bien d'une «conductance moyenne» et non de celle de l'équation AppB.20 qui est valide quand $V \approx E_X$.

AppB.3 Le potentiel de repos

Au chapitre 1, nous avons fourni l'équation 1.B2.11 qui permet d'évaluer le potentiel de repos quasi-stationnaire (*ie*. en négligeant la présence des pompes). Pour obtenir cette équation, nous avions additionné les courants de chaque espèce ionique, décrits avec l'équation $J_X = g_X(V - E_X)$, et supposé que le total est nul. Nous allons revisiter ce résultat en utilisant plutôt l'équation AppB.12 ci-dessus pour décrire chaque courant ionique.

Afin de pouvoir comparer entre eux les courants de différentes espèces ioniques, on débute en définissant la perméabilité P_X de la membrane à l'espèce ionique X. Si la membrane est une bicouche pure, alors $P_X = D_X/L$. Si le milieu homogène se limite aux passages hydrophiles formé par les canaux ouverts, alors l'équation AppB.12 ne s'applique qu'à la surface occupée par les canaux. Pour que J devienne le courant par unité de surface *de membrane*, il faut alors multiplier par la proportion α de la surface de la membrane qui est occupée par ces canaux. L'avantage de cette nouvelle définition est que l'équation AppB.12 est maintenant identique pour les deux cas et devient :

$$J_X = P_X \frac{q^2 V}{k_B T} \frac{c_{ext} - c_{int} e^{\frac{qV}{k_B T}}}{1 - e^{\frac{qV}{k_B T}}}$$ (équation AppB.21)

On peut donc maintenant débuter la démonstration en supposant que la somme de tous les courants ioniques passifs est nulle, donc que $V = V_0$:

$$\sum_X J_X = \frac{V_0}{k_B T} \sum_X q_X^2 P_X \frac{c_{ext,X} - c_{int,X} e^{\frac{q_X V_0}{k_B T}}}{1 - e^{\frac{q_X V_0}{k_B T}}} \equiv 0$$ (équation AppB.22)

Si on considère seulement les ions monovalents comme Na^+, K^+ et Cl^-, alors $q_X = \pm e$ dans chacun des cas. On peut donc premièrement éliminer q_X^2 qui correspond à e^2 pour chaque terme.

Deuxièmement, on peut aussi écrire :

$$\frac{c_{ext,X} - c_{int,X} e^{\frac{q_X V_0}{k_B T}}}{1 - e^{\frac{q_X V_0}{k_B T}}} = \begin{cases} \dfrac{c_{ext,X} - c_{int,X} e^{\frac{eV_0}{k_B T}}}{1 - e^{\frac{eV_0}{k_B T}}} & q_X = e \\ \dfrac{c_{ext,X} e^{\frac{eV_0}{k_B T}} - c_{int,X}}{e^{\frac{eV_0}{k_B T}} - 1} & q_X = -e \end{cases}$$ (équation AppB.23)

ce qui permet d'éliminer le dénominateur $1 - e^{\frac{eV_0}{k_B T}}$ qui devient commun à tous les termes si on inverse le signe du numérateur et du dénominateur dans le cas $q_X = -e$. Avec ces deux simplifications, l'équation AppB.22 devient :

$$\sum_{\substack{\text{ions} \\ \text{positifs}}} P_X \left(c_{ext,X} - c_{int,X} e^{\frac{eV_0}{k_B T}} \right) + \sum_{\substack{\text{ions} \\ \text{négatifs}}} P_X \left(c_{int,X} - c_{ext,X} e^{\frac{eV_0}{k_B T}} \right) \equiv 0$$

(équation AppB.24)

En regroupant les termes qui sont multipliés ou non par le facteur exponentiel, cette équation peut s'écrire :

$$\sum_{\substack{\text{ions}\\\text{positifs}}} P_X c_{\text{ext},X} + \sum_{\substack{\text{ions}\\\text{négatifs}}} P_X c_{\text{int},X} - e^{\frac{eV_0}{k_B T}} \left(\sum_{\substack{\text{ions}\\\text{positifs}}} P_X c_{\text{int},X} + \sum_{\substack{\text{ions}\\\text{négatifs}}} P_X c_{\text{ext},X} \right) \equiv 0$$

(équation AppB.25)

Il ne reste donc plus qu'à isoler V_0. Pour ce faire, on note que l'équation AppB.25 a la forme $A - B\exp(\beta e V_0) = 0$ et a donc pour solution $V_0 = (1/\beta e)\ln(A/B)$. On obtient donc (voir Sterratt 2011, section 2.4 ; Hille 2001, chap. 14) :

Potentiel de repos de Goldman-Hodgkin-Katz

$$V_0 = \frac{k_B T}{e} \ln \frac{\sum_{\substack{\text{ions}\\\text{positifs}}} P_X c_{\text{ext},X} + \sum_{\substack{\text{ions}\\\text{négatifs}}} P_X c_{\text{int},X}}{\sum_{\substack{\text{ions}\\\text{positifs}}} P_X c_{\text{int},X} + \sum_{\substack{\text{ions}\\\text{négatifs}}} P_X c_{\text{ext},X}}$$

(équation AppB.26)

On note que l'équation AppB.26 ne nécessite pas de connaître chacune des perméabilités P_X mais seulement leurs rapports. On peut donc tout aussi bien utiliser cette équation avec les conductances électriques g_X, proportionnelles aux perméabilités correspondantes. C'est ce que nous avons fait dans le chapitre 1, où l'équation AppB.26 devient l'équation 1.B2.13.

Notons aussi que la démonstration supposait à quelques étapes que les concentrations étaient exprimées en ions par mètre cube (et non en moles d'ions par mètre cube) mais cela n'a aucune importance dans l'équation AppB.26, seuls les rapports étant importants.

Cette page est intentionnellement blanche.

Appendice C : Considérations informatiques

Nos travaux de recherche ont supposé de construire un modèle numérique, c'est-à-dire un modèle théorique qui représente l'évolution d'un axone par un système d'équations différentielles dont la solution est ensuite obtenue numériquement. Dans cet appendice, nous introduisons les méthodes qui sont utilisées pour obtenir de cette façon la solution d'une équation différentielle de premier ordre ou d'un système de telles équations. Nous présentons ensuite les divers types d'erreurs qui découlent de telles méthodes et les façons dont ces erreurs peuvent être évaluées et minimisées. Enfin, nous terminerons en présentant quelques aspects techniques supplémentaires qui méritent une brève discussion. Si le début de cet appendice est introductif et fait suite au chapitre 1, la fin présente des étapes importantes de notre modèle de recherche et fait donc suite au chapitre 3.

Puisque nos travaux de recherche (chapitre 4) et le projet I de notre article pédagogique (chapitre 2) impliquent exclusivement des équations différentielles ordinaires de premier ordre, nous nous concentrons ici sur les méthodes numériques permettant de solutionner ces dernières. Le lecteur qui veut en savoir davantage sur les méthodes numériques aurait avantage à consulter Landau 2007. Des codes clé-en-main sont disponibles dans l'excellent *Numerical Recipies in C* (Press 1992) ou dans les autres éditions du même ouvrage qui ont été produites pour d'autres langages de programmation. Les étudiants de l'Université d'Ottawa ont aussi accès au matériel du cours *Physique numérique I* (L'Heureux 2012) qui constitue un excellent résumé introductif.

AppC.1 Le principe de base et les méthodes

Le problème que nous souhaitons résoudre est une équation différentielle de la forme

$$\frac{\mathrm{d}y}{\mathrm{d}t} = f(y) \qquad \text{(équation AppC.1)}$$

assortie d'une condition initiale $y(0) = y_0$. Solutionner l'équation AppC.1 numériquement consiste à obtenir un estimé de la solution $y(t)$ qui débute à la condition initiale. Cet estimé prend la forme d'un tableau de valeurs à différents temps discrets.

Le problème peut aussi être un système de N équations ayant la forme de l'équation AppC.1, soit $\mathrm{d}y_1/\mathrm{d}t = f(y_1,y_2, ...)$, $\mathrm{d}y_2/\mathrm{d}t = g(y_1,y_2, ...)$, etc., déterminant N variables y_1, y_2, ..., y_N à partir de N conditions initiales. Afin de simplifier la notation, on note un tel système :

$$\frac{\mathrm{d}\vec{y}}{\mathrm{d}t} = f(\vec{y}) \qquad \text{(équation AppC.2)}$$

Notez que, dans l'équation AppC.2, le membre de droite de chacune des N équations peut dépendre simultanément de chacune des N variables. Notez aussi que le membre de droite ne doit jamais dépendre explicitement du temps, exactement comme à l'appendice A. (Dans l'éventualité où ce serait le cas, on peut se débarasser de cette dépendance en considérant le temps comme une variable supplémentaire. Par exemple, $\mathrm{d}y/\mathrm{d}t = 2yt$ peut

devenir, si on pose $y_2 \equiv t$, le système dy_1/dt = $2y_1y_2$ et dy_2/dt = 1.) Nous poursuivrons la discussion en présentant des méthodes solutionnant l'équation AppC.1, mais le lecteur peut garder en tête qu'elles sont toutes généralisables à l'équation AppC.2.

Obtenir la solution numérique de l'équation AppC.1 ou AppC.2 commence par une discrétisation du temps. La méthode la plus simple consiste à évaluer $y(t)$ à des points qui sont séparés par un (petit) intervalle de temps constant h. Les temps en question sont donc $t_0 = 0$, $t_1 = h$, $t_2 = 2h$, etc. On appelle **méthodes explicites à un pas** les algorithmes qui solutionnent numériquement l'équation AppC.1 en évaluant $y(h)$ à partir de $y(0)$, puis $y(2h)$ à partir de l'estimé de $y(h)$, puis $y(3h)$ à partir de l'estimé de $y(2h)$, et ainsi de suite. Pour simplifier la notation, on écrira y_n pour désigner l'estimé de $y(t = t_n = nh)$. (Il existe aussi des méthodes *à plusieurs pas*, qui nécessitent de connaître deux ou plusieurs points précédents pour calculer le point suivant; de même, il y a des *méthodes implicites*, où la fonction exprimant le point suivant dépend de ce dernier. Nous ne discuterons pas de telles méthodes ici.)

Méthode d'Euler. Pour comprendre le principe des méthodes à un pas, nous présentons d'abord la plus simple, c'est-à-dire la **méthode d'Euler**. Cette dernière consiste à utiliser la définition fondamentale de la dérivée pour remplacer l'équation AppC.1 par :

$$\frac{y_{n+1} - y_n}{h} = f(y_n) \qquad \text{(équation AppC.3)}$$

En isolant l'inconnue, on obtient :

$$y_{n+1} = y_n + hf(y_n) \qquad \text{(équation AppC.4)}$$

La programmation de l'équation AppC.4 correspond au code C suivant, très court :

```
#define NB_PTS     10000
double h, y[NB_PTS];
y[0] = // insérer la condition initiale ici
h = 0.001;
for(n = 0; n < NB_PTS-1; n++)
    y[n+1] = y[n] + f(y[n]);
```

Erreur de troncature. Nous venons de montrer que l'avantage de la méthode d'Euler est d'être rapide à programmer. Par contre, même dans le cas où y_n est exact, cette méthode fournit un estimé peu précis de y_{n+1}. Pour le comprendre, on peut exprimer théoriquement y_{n+1} en utilisant sa série de Taylor développée aux environs de t_n :

$$y_{n+1} = y_n + h\left.\frac{\mathrm{d}y}{\mathrm{d}t}\right|_{y=y_n} + \tfrac{1}{2!}h^2\left.\frac{\mathrm{d}^2y}{\mathrm{d}t^2}\right|_{y=y_n} + \tfrac{1}{3!}h^3\left.\frac{\mathrm{d}^3y}{\mathrm{d}t^3}\right|_{y=y_n} + \tfrac{1}{4!}h^4\left.\frac{\mathrm{d}^4y}{\mathrm{d}t^4}\right|_{y=y_n} + \ldots$$

(équation AppC.5)

Or, l'équation AppC.4 peut être obtenue en ne conservant que les deux premiers membres de droite de l'équation AppC.5 (et en substituant l'équation AppC.1), ce qui signifie que cette méthode ignore tous les autres termes. Voilà pourquoi l'estimé y_{n+1} est peu précis.

Ce type d'erreur, faite en tronquant l'équation AppC.5, est dite **erreur de troncature**.

On peut indiquer explicitement l'existence de l'erreur de troncature en réécrivant l'équation AppC.4 comme :

$$y_{n+1} = y_n + hf(y_n) + O(h^2) \qquad \text{(équation AppC.6)}$$

Cette notation signifie que les termes proportionnels à h^2 et aux puissances plus élevées de h sont ignorés. On dit que la méthode d'Euler est une méthode d'ordre 1, puisque le dernier terme de l'équation AppC.5 dont elle tient compte est le terme d'ordre 1.

Connaître l'ordre de la méthode permet d'évaluer le gain obtenu en réduisant h. Dans le cas de la méthode d'Euler, si h est réduit de moitié, l'erreur de troncature est réduite au *quart* puisqu'elle est proportionnelle à h^2. Il faut donc utiliser un pas h extrêmement petit, donc faire un très grand nombre de pas, pour espérer produire un résultat correct. (Nous verrons au prochain bloc que cela peut s'avérer impossible même si $h \to 0$.) Puisqu'un grand nombre de pas nécessite plus de temps d'exécution sur un ordinateur, la méthode d'Euler n'est pas utilisée en recherche, sauf peut-être pour obtenir rapidement des estimés grossiers.

Autres méthodes à un pas d'ordre 2. Pour réduire l'erreur de troncature, on peut obtenir une méthode d'ordre 2 en évaluant un terme supplémentaire de l'équation AppC.5. La première méthode consiste à remplacer directement l'équation AppC.1 dans ce terme supplémentaire, qui devient :

$$\tfrac{1}{2!}h^2 \left.\frac{\mathrm{d}^2 y}{\mathrm{d}t^2}\right|_{y=y_n} = \tfrac{1}{2!}h^2 \frac{\mathrm{d}f(y_n)}{\mathrm{d}t} = \tfrac{1}{2!}h^2 f(y_n)\frac{\mathrm{d}f(y_n)}{\mathrm{d}y} \qquad \text{(équation AppC.7)}$$

où nous avons utilisé la dérivée en chaîne $\mathrm{d}f/\mathrm{d}t = (\mathrm{d}f/\mathrm{d}y)(\mathrm{d}y/\mathrm{d}t)$ et substitué l'équation AppC.1. En ajoutant ce terme à l'équation AppC.4, nous obtenons la **méthode de Taylor** d'ordre 2 :

$$y_{n+1} = y_n + hf(y_n) + \tfrac{1}{2!}h^2 f(y_n)\frac{\mathrm{d}f(y_n)}{\mathrm{d}y} + O(h^3) \qquad \text{(équation AppC.8)}$$

L'inconvénient de la méthode de Taylor est qu'elle requiert d'évaluer analytiquement la dérivée $\mathrm{d}f/\mathrm{d}y$ et d'en faire une fonction du programme. Il existe cependant une alternative, puisqu'on peut concevoir une méthode qui estime l'équation AppC.8 par le polynôme suivant, qui n'utilise que la fonction $f(y)$ et non ses dérivées :

$$y_{n+1} = y_n + b_1 hf(y_n) + b_2 hf(y_n + a_{21}hf(y_n)) \qquad \text{(équation AppC.9)}$$

Pour fixer les coefficients b_1, b_2 et a_{21} on développe $f(y_\mathrm{n} + a_{21}k_1)$ en série de Taylor à deux variables, on substitue dans l'équation AppC.9 et on regroupe les termes obtenus afin de

pouvoir les comparer avec ceux de l'équation AppC.8. On choisit alors les coefficients afin que ces deux équations soient égales (à l'exception des termes négligés, $O(h^3)$, qui peuvent être différents). Il s'avère qu'il demeure un degré de liberté dans le choix des paramètres, l'égalité des équations AppC.8 et AppC.9 pouvant être obtenue pour toute valeur de a_{21}, avec $b_2 = 1/2a_{21}$ et $b_1 = 1 - b_2$. Le choix le plus populaire est $a_{21} = 1$, ce qui fixe $b_1 = b_2 = ½$. On obtient donc une des **méthodes Runge-Kutta** d'ordre 2, habituellement présentée sous la forme suivante, qui simplifie à la fois la lecture et les calculs :

$$y_{n+1} = y_n + b_1 k_1 + b_2 k_2 + O(h^3) = y_n + \tfrac{1}{2} k_1 + \tfrac{1}{2} k_2 + O(h^3)$$

(équation AppC.10)

où $$k_1 = hf(y_n)$$
$$k_2 = hf(y_n + a_{21} k_1) = hf(y_n + k_1)$$

Méthodes à un pas d'ordre supérieur. On peut généraliser la méthode de Taylor et les méthodes Runge-Kutta à un ordre quelconque, selon l'erreur de troncature qu'on souhaite vouloir faire.

Dans le cas de la méthode de Taylor, cela requiert d'évaluer analytiquement les autres termes de l'équation AppC.5 et de convertir toutes les dérivées par rapport à *t* en dérivées par rapport à *y*.

Quant aux méthodes Runge-Kutta,sur lesquelles nous nous attarderons davantage, pour un ordre *N* donné, elles ont la forme :

$$y_{n+1} = y_n + \sum_{i=1}^{N} b_i k_i + O(h^{N+1})$$

(équation AppC.11)

où $$k_i = hf(y_n + \sum_{j=1}^{i-1} a_{ij} k_i)$$

Dans l'équation AppC.11, les coefficients doivent respecter diverses contraintes, notamment $\sum b_i = 1$ (facilement obtenue si $y = t$) et les contraintes permettant l'égalité terme par terme des équations AppC.11 et de l'équation AppC.5 (Zingg 1999). Il faut aussi noter que, d'après l'équation AppC.11, la méthode d'Euler correspond à une méthode Runge-Kutta d'ordre 1.

Le choix pour une rapidité optimale : la méthode RK4. Si le temps d'exécution sur un ordinateur est un critère important, choisir une méthode d'un ordre donné nécessitent de faire un compromis entre deux effets qui s'opposent.

Premièrement, on note que plus l'ordre de la méthode est élevé, plus l'erreur de troncature est petite. Par exemple, réduire *h* de moitié dans le cas de la méthode d'Euler réduit à 25 % de sa valeur l'erreur de troncature $O(h^2)$. En revanche, réduire *h* de moitié dans le cas

d'une méthode d'ordre 4 réduit $O(h^5)$ de 96,9%. Pour une même erreur de troncature, utiliser une méthode d'ordre plus élevé permet donc d'augmenter h, ce qui réduit le nombre total de répétitions de l'algorithme par l'ordinateur. Ce premier effet favorise donc les méthodes d'ordre élevé.

Cependant, quand on augmente l'ordre, le nombre d'opérations arithmétiques requises pour *chaque* itération de l'algorithme augmente. En particulier, l'équation AppC.11 montre que chaque pas temporel d'une méthode d'ordre N requiert d'évaluer N fois la fonction $f(y_n)$. Ce second effet favorise les méthodes d'ordre faible.

Pour identifier la méthode qui minimise le temps d'exécution, il faut donc évaluer le nombre *total* d'opérations arithmétiques. Une des méthodes Runge-Kutta d'ordre 4 offre un choix optimal ; elle est tellement utilisée qu'on l'appelle souvent la méthode Runge-Kutta classique, la **méthode RK4** ou encore «la» méthode Runge-Kutta :

$$y_{n+1} = y_n + \tfrac{1}{6}(k_1 + 2k_2 + 2k_3 + k_4)$$

$$\text{où} \quad \begin{aligned} k_1 &= hf(y_n) \\ k_2 &= hf(y_n + \tfrac{1}{2}k_1) \\ k_3 &= hf(y_n + \tfrac{1}{2}k_2) \\ k_4 &= hf(y_n + k_3) \end{aligned} \qquad \text{(équation AppC.12)}$$

La méthode RK4 est celle que nous avons utilisée dans le projet I de l'article du chapitre 2 et qui, comme nous le verrons ci-dessous, forme la méthode de base de nos calculs de l'article du chapitre 4. Évidemment, le temps d'exécution n'est pas le seul critère qui a guidé ce choix, comme nous le verrons maintenant.

AppC.2 L'accumulation et la gestion d'erreurs

Jusqu'à présent, nous avons discuté de la méthode RK4 qui optimise le temps d'exécution et avons introduit l'erreur de troncature qui, dans le cas de la méthode RK4, est $O(h^5)$. Après avoir présenter une autre source d'erreur, présente dans toute méthode numérique, nous montrerons comment ces deux types d'erreurs s'accumulent d'itération en itération et ce qu'on peut faire pour les contrôler.

L'erreur d'arrondi. Toute solution numérique implique un grand nombre de calculs arithmétiques. Or, le résultat de chacune de ces opérations est stocké par l'ordinateur dans un espace mémoire de taille *finie*. Inévitablement, le dernier chiffre (en binaire ou en décimal) est arrondi. Même une méthode numérique sans erreur de troncature est donc affectée au moins par cette **erreur d'arrondi**.

En programmant, on peut diminuer l'erreur d'arrondi en stockant chaque nombre réel dans un espace mémoire de 64 bits plutôt que 32 bits. (Ces deux formats sont respectivement

appelés *réels en double précision* et *en simple précision*; en langage C, ils correspondent respectivement aux formats *double* et *float*.)

Pour un unique calcul arithmétique, l'erreur relative causée par l'arrondissement est au maximum de l'ordre de l'**epsilon machine**, ε_{m}, c'est-à-dire la plus petite valeur non nulle que peut contenir un nombre réel en double précision, soit $2^{-53} \approx 10^{-16}$.

Stabilité numérique. Si on examine les différentes méthodes à un pas qui ont été présentées au bloc précédent, on se rend compte que chaque itération a pour point de départ un estimé d'un point de la courbe $y(t)$. À exception de la condition initiale y_0, on n'a aucune certitude que l'estimé se trouve effectivement sur la courbe $y(t)$. Or, le membre de droite de l'équation AppC.1, $f(y_n)$, n'a en général pas la même valeur si l'estimé y_n diffère de la valeur exacte $y(t_n)$. Ainsi, même dans la situation hypothétique où l'algorithme ne produirait aucune erreur de troncature et où les erreurs d'arrondis seraient négligeables, il existe une possibilité qu'une erreur présente à un seul point soit amplifiée d'itération en itération, une situation qui doit absolument être évitée.

Le choix de la méthode d'intégration numérique joue un rôle important dans le fait qu'une petite erreur est amortie par les itérations suivantes ou, au contraire, amplifiée. Il faut donc, avant de choisir un algorithme donné, étudier sa **stabilité numérique** pour l'équation différentielle qu'on souhaite intégrer. L'algorithme est dit *stable* si une erreur présente à une itération donnée est amortie par les itérations suivantes. (Un algorithme *instable* doit être purement et simplement remplacé par un autre.) Précisons que la stabilité d'un algorithme s'évalue pour une équation différentielle donnée.

Pour étudier la stabilité d'un algorithme, on utilise une méthode similaire à celle présentée à l'appendice A pour étudier la stabilité d'un point fixe. Supposons qu'on dispose d'un algorithme donné qui discrétise un système de N équations différentielles $\mathrm{d}y_{\mathrm{a}}/\mathrm{d}t = f(y_{\mathrm{a}},y_{\mathrm{b}}, ...)$, $\mathrm{d}y_{\mathrm{b}}/\mathrm{d}t = g(y_{\mathrm{a}},y_{\mathrm{b}}, ...)$, etc. sous la forme $\vec{y}_{n+1} = \vec{y}_n + ... = T(\vec{y}_n)$. On considère d'abord que la valeur de $\vec{y}_n$ à un temps $t_n = nh$ quelconque est entachée d'une erreur $\vec{e}_n$. Pour évaluer l'évolution de $\vec{e}_n$ d'itération en itération, il suffit d'évaluer la matrice jacobienne $N{\times}N$ donnée par :

$$\mathbf{J} = \begin{pmatrix} \dfrac{\partial T_a}{\partial y_a} & \dfrac{\partial T_a}{\partial y_b} & \cdots \\ \dfrac{\partial T_b}{\partial y_a} & \dfrac{\partial T_b}{\partial y_b} & \cdots \\ \vdots & \vdots & \ddots \end{pmatrix}_{t=nh} \qquad \text{(équation AppC.13)}$$

Pour que l'algorithme soit stable, on doit simplement vérifier que les valeurs propres de cette matrice jacobienne, qu'elles soient réelles ou complexes, ont *toutes* une norme inférieure à l'unité. Dès qu'une seule des valeurs propres ne respecte pas cette condition, le système est instable. Quand le système est stable, la présence d'une éventuelle partie

imaginaire aux valeurs propres indique que $\vec{y}_n$ tend vers la solution exacte en oscillant, son absence indiquant plutôt que $\vec{y}_n$ tend vers la solution exacte de façon monotone.

Pour illustrer cette démarche, prenons l'exemple d'un cas $N = 1$ où on discrétise l'équation différentielle $\mathrm{d}y/\mathrm{d}t = -Ay$ par la méthode d'Euler, d'où $y_{n+1} = y_n + hf(y_n) = y_n(1 - Ah)$. On a donc $T(y_n) = y_n(1 - Ah)$. De toute évidence, le jacobien **J** est une matrice 1×1 dont l'unique élément est $(1 - Ah)$. Pour *cette* équation différentielle, l'algorithme est donc stable quelle que soit la valeur de h, pourvu que A soit positif.

Le fondement théorique de cette méthode est simple. Nous l'illustrons avec l'exemple d'un cas $N = 1$ générique $\mathrm{d}y/\mathrm{d}t = f(y)$, discrétisé par la fonction $y_{n+1} = T(y_n)$. Si la solution exacte aux temps t et $t + h$ est respectivement notée par $y(t)$ et $y(t + h)$, alors les valeurs numériques utilisées par l'ordinateur à ces deux temps sont respectivement $y_n = y(t) + e_n$ et $y_{n+1} = y(t + h) + e_{n+1}$. Si on applique la fonction T à y_n et qu'on utilise un développement de Taylor, on obtient :

$$\begin{aligned} T(y_n) &= T\left(y(t) + e_n\right) \approx T\left(y(t)\right) + e_n \left.\tfrac{\mathrm{d}T}{\mathrm{d}y}\right|_{y(t=nh)} + O(e_n^2) \\ &= y(t+h) + e_n \left.\tfrac{\mathrm{d}T}{\mathrm{d}y}\right|_{y(t=nh)} + O(e_n^2) \end{aligned} \qquad \text{(équation AppC.14)}$$

où on a utilisé, à la seconde ligne, le fait que la fonction T appliquée à la solution exacte $y(t)$ donne la solution exacte au temps suivant, $y(t + h)$.

De même, le même de gauche $T(y_n)$ de l'équation ci-dessus donne, par définition, y_{n+1}, c'est-à-dire $y_{n+1} = y(t + h) + e_{n+1}$. Après élimination des termes $y(t + h)$ de part et d'autre, on obtient donc :

$$e_{n+1} = e_n \left.\tfrac{\mathrm{d}T}{\mathrm{d}y}\right|_{y=y_n} + O(e_n^2) \qquad \text{(équation AppC.15)}$$

Puisque les erreurs sont normalement petites, on peut sans gêne négliger les termes proportionnels à e_n^2. On voit alors que $e_{n+1} < e_n$ à la seule condition que la dérivée $\mathrm{d}T/\mathrm{d}y$, évaluée au temps présent, soit inférieure à 1. Cette dérivée est évidemment le jacobien dans le cas $N = 1$.

Notons que, dans l'éventualité où $T(y_n)$ est une fonction linéaire, donc proportionnelle à y_n, l'équation AppC.15 se réduit toujours à $e_{n+1} = T(e_n)$. (Par exemple, c'était le cas pour la fonction $\mathrm{d}y/\mathrm{d}t = -Ay$ ci-dessus.)

Le raisonnement ayant conduit à l'équation AppC.15 se généralise facilement au cas $N > 1$: la fonction T devient alors un vecteur de fonctions de $\vec{y}$ et la dérivée $\mathrm{d}T/\mathrm{d}y$ devient la matrice $\partial\vec{T}/\partial\vec{y}$, c'est-à-dire la matrice jacobienne.

L'accumulation d'erreur. La stabilité d'un algorithme permet d'assurer que l'erreur présente à une seule itération n'est pas amplifiée par les itérations suivantes. Cependant, une nouvelle erreur est créée à chaque itération et s'accumule. La **figure AppC.1** illustre cela, dans le cas de l'erreur de troncature associée à la méthode d'Euler.

Dans un cas de stabilité marginale, on considère que l'erreur de troncature s'accumulée d'une itération à l'autre forme l'erreur accumulée ε_t. De même, l'erreur d'arrondi accumulée est notée ε_a. L'erreur totale accumulée est donc $\varepsilon = \varepsilon_t + \varepsilon_a$.

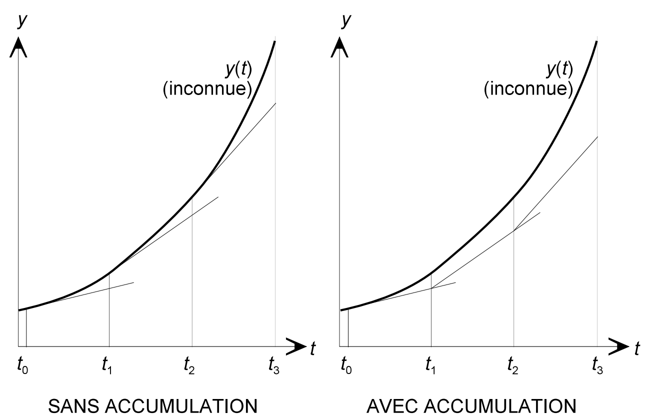


Figure AppC.1 Chaque itération produit une erreur de troncature (gauche). Cependant, chacune débute non pas avec un point sans erreur, mais avec l'estimé produit par l'itération précédente. Il y a donc accumulation d'erreur.

Une fois que nous avons choisi une méthode dont la stabilité a été vérifiée, encore faut-il choisir un pas d'intégration *h* qui minimise l'erreur totale accumulée. Il faut donc évaluer $\varepsilon = \varepsilon_t + \varepsilon_a$, ce que nous ferons en commençant par ε_a.

Si chaque arrondissement cause une erreur d'arrondi relative ε_m, on pourrait penser que N_a arrondissements causent une erreur relative d'arrondi $\varepsilon_a = N_a\varepsilon_m$. Ce n'est toutefois pas le cas, sauf si on a la certitude que tous les arrondissements se font dans le même sens. En général, on obtient un mélange aléatoire d'arrondissements vers le haut et d'arrondissements vers le bas. Après N_a arrondissements, l'erreur d'arrondis accumulée est donc dans l'intervalle $[-N\varepsilon_m, N\varepsilon_m]$, avec une espérance nulle. Si on répète cette opération un grand nombre de fois, chaque fois avec N_a opérations arithmétiques différentes, la moyenne quadratique de l'erreur accumulée après N_a opérations est :

$$\varepsilon_a = \sqrt{N_a}\,\varepsilon_m \qquad \text{(équation AppC.16)}$$

Nous prendrons donc ce dernier résultat comme une estimation de l'erreur d'arrondi accumulée. (Notons que cela n'est pas sans rappeler une marche aléatoire à une dimension, où un marcheur quitterait l'origine et, après *N* pas de longueur *b*, se situerait forcément entre $-Nb$ et $+Nb$, mais où la distance moyenne parcourue après un grand nombre d'essais de *N* pas serait $\sqrt{N}b$.)

D'une façon similaire, les erreurs de troncature s'accumulent d'une itération à l'autre (voir figure AppC.1). Après N_b itérations d'une méthode comme RK4, l'erreur accumulée suit souvent la règle suivante, où α et β sont des paramètres à déterminer empiriquement :

$$\varepsilon_t = \alpha N_t^{-\beta} \qquad \text{(équation AppC.17)}$$

Notez que l'erreur diminue lorsque N_t augmente car on suppose ici que la durée totale T de la simulation est la même. Puisque le nombre de pas, qui correspond à N_t, est T/h, une augmentation de N_t correspond nécessairement à une diminution du pas d'intégration h, donc une plus faible erreur de troncature.

En additionnant les équations AppC.16 et AppC.17, on obtient que l'erreur totale accumulée (sans tenir compte de son éventuelle atténuation par la propriété de stabilité de l'algorithme) est :

$$\varepsilon = \sqrt{N_a}\,\varepsilon_m + \alpha N_t^{-\beta} \qquad \text{(équation AppC.18)}$$

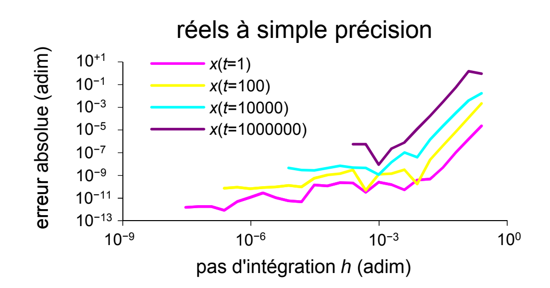
où N_a/N_t est un ratio constant et supérieur à 1 qui correspond au nombre d'opérations arithmétiques par itération de l'algorithme. Par exemple, l'utilisation de la méthode RK4 requiert d'évaluer quatre fois $f(y_n)$ par itération, puis d'effectuer six multiplications et sept additions. Même si $f(y_n)$ contient une seule opération arithmétique, on arrive donc à $N_a/N_t = 17$. Dans le cas des équations du modèle HH, on a $N_a/N_t \approx 100$. Si on considère que ce ratio est intégré dans la constante empirique α, on peut convertir l'équation AppC.18 sous la forme :

$$\varepsilon = \sqrt{N}\,\varepsilon_m + \alpha N^{-\beta} \qquad \text{(équation AppC.19)}$$

où N peut représenter aussi bien N_a que N_t. L'avantage l'équation AppC.19 est de révéler clairement que ε présente un minimum pour une valeur donnée de N. Or, N croît de façon monotone quand h diminue ; il y a donc une valeur de h pour laquelle l'erreur ε est minimale. En général, cette valeur n'est cependant pas la même pour chaque estimé y_n.

Pour illustrer ce concept, nous avons simulé un oscillateur harmonique simple, qui présente l'avantage d'avoir une solution analytique connue (avec les conditions initiales que nous avons utilisées : $x = \cos t$). La **figure AppC.2** présente, en fonction de h, l'erreur absolue qui affecte quatre résultats, soit $x(t = 1)$, $x(t = 10^2)$, $x(t = 10^4)$ et $x(t = 10^6)$. (Attention : chaque courbe compare x au même temps $t = nh$ et non à la même itération n.)

On note tout d'abord que l'erreur totale décroît de façon linéaire (sur un graphique log-log) quand h décroît à partir de valeurs élevées. Cette portion des graphiques correspond au second terme de l'équation AppC.19. Pour des valeurs encore plus faibles de h, l'erreur atteint éventuellement un minimum et se met à fluctuer, avec ou sans tendance à remonter : cette portion des graphiques se produit quand c'est le premier terme de l'équation AppC.19 qui est dominant.



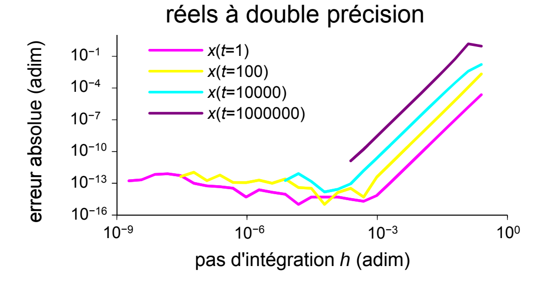


Figure AppC.2 Erreur absolue en fonction de h. L'utilisation de réels à double précision diminue les erreurs d'arrondis. Notez les axes logarithmiques.

La forme de l'équation AppC.19 ne prévoit pas explicitement ces fluctuations, mais il faut rappeler deux aspects. Premièrement, la premier terme de l'équation AppC.19 est valide dans un cas de stabilité marginale, alors que notre algorithme est stable : toute nouvelle erreur d'arrondi qui est créée s'ajoute au total mais s'estompe avec le temps. Ensuite, le premier terme de l'équation AppC.19 est probabiliste : même dans un cas de stabilité marginale, un unique essai comme celui de notre figure AppC.2 présenterait des fluctuations. Il faudrait répéter le graphique avec des points voisins ou des conditions initiales différentes et faire la moyenne erreurs obtenues pour obtenir la forme $N^{1/2} \sim h^{-1/2}$ prévue à l'équation AppC.19.

Enfin, précisons que la figure AppC.2 montre bien que le minimum atteint par l'erreur totale est nettement plus faible si on utilise des réels à double précision plutôt qu'à simple précision, ce qui découle de la différence de ε_m.

Stratégie pour choisir h. Une fois que la stabilité de notre algorithme est assurée, on veut généralement choisir la valeur la plus élevée possible de *h* (qui conserve l'erreur sous un seuil de tolérance choisi) pour éviter que le temps d'exécution ne soit prohibitif. Quand on doit faire ce choix de *h*, il faut distinguer deux possibilités, selon que l'erreur minimale apparaissant sur un graphique comme celui de la figure AppC.2 est plus faible ou plus élevée que le seuil d'erreur que nous sommes prêt à tolérer.

Dans le premier cas, il sera possible de choisir une valeur de *h* qui permet à *tous* les points de notre simulation d'être affectée par une erreur inférieure au seuil voulu. (En pratique, il suffit de tester pour quelques temps *t** bien choisis, un peu comme les quatre temps que nous avons illustrés à la figure AppC.2.) Il faut d'abord réaliser un graphique comme celui de la figure AppC.2. Pour ce faire, on doit estimer la solution analytique (dont on ne dispose pas habituellement) en effectuant un **test de convergence**. Une valeur analytique à laquelle on additionnerait les erreurs de la figure AppC.2 présenterait des valeurs très différentes pour les *h* très élevés tout comme pour les *h* très faibles, mais les valeurs seraient similaires entre elles quand l'erreur est minimale. En d'autres termes, quand on réduit *h* à partir d'une valeur élevée, le résultat obtenue pour un temps *t** semble *converger* vers une valeur limite qu'on prend comme un estimé de la valeur analytique. Une fois cette valeur limite établie, on choisit la plus grande valeur de *h* qui ne fait en sorte que le résultat ne s'en éloigne pas au delà du seuil d'erreur toléré.

Le test de convergence peut fonctionner uniquement si le premier terme de l'équation AppC.19 demeure de taille négligeable, comparativement au second terme, pour les temps *t** étudiés. Cela est le cas pour les simulations du projet I de l'article du chapitre 2, mais pas si on simule un axone comme au chapitre 4 en utilisant un pas *h* fixe pendant plusieurs milliards de pas. Quand le test de convergence échoue, il devient alors impossible de minimiser l'erreur pour *chaque* point y_n. On dispose alors de deux options.

La première option est de viser un compromis où le seuil de tolérance est respecté pour certaines valeurs de *t** (souvent les plus faibles, qui ont moins d'erreur d'arrondi accumulée) mais pas les autres. On trouve alors la valeur de *t** la plus élevée possible qui permet d'effectuer le test de convergence et on fixe *h* sur la base de ce *t**. Par contre, on doit accepter que les points pour $t > t^*$ sont affectés par davantage d'erreur. S'ils représentent une minorité du temps de simulation, cette option peut devenir acceptable.

La seconde option, quand le premier terme de l'équation AppC.19 devient non négligeable, est de modifier l'algorithme afin de diminuer le nombre d'itérations. Par exemple, on peut alors remplacer la méthode Runge-Kutta par une des nombreuses autres méthodes de solution d'une équation différentielle. On peut aussi utiliser une valeur non constante pour le pas temporel h, afin de minimiser le nombre d'itérations sans augmenter l'erreur de troncature produite à chacune d'elles. C'est cette dernière option que nous avons privilégiée dans l'article du chapitre 4 et que nous allons maintenant présenter plus en détails.

Pas temporel adaptatif. En général, utiliser un **pas adaptatif** consiste a réduire h quand le membre de droite de l'équation AppC.1 est grand et à l'augmenter sinon. Les équations du modèle HH sont particulièrement appropriée pour une telle approche puisque le modèle HH a deux constantes de temps : V évolue rapidement pendant un potentiel d'action, lentement pendant la phase réfractaire.

Les méthodes pour ajuster h sont nombreuses. Par exemple, le code utilisé pour produire les résultats de Boucher 2012 détectait les incréments à y_n et augmentait et diminuait h seulement par un facteur 10.

Une approche plus optimale consiste à évaluer l'erreur de troncature et à ajuster précisément h pour qu'elle demeure toujours immédiatement sous un seuil préalablement établi. Le nombre total d'itérations est ainsi minimisé, au prix de légèrement plus de calcul. Encore ici, de nombreuses méthodes sont possibles. Par exemple, on peut réaliser chaque itération parallèlement avec une méthode d'ordre 3 et une méthode d'ordre 4 puis soustraire les deux résultats obtenus. On obtient ainsi un estimé du terme d'ordre 4 (c'est-à-dire le terme d'ordre 4 additionné des termes d'ordre supérieurs).

Cette approche double approximativement le nombre d'opérations arithmétiques réalisées à chaque itération, mais elle diminue le nombre total de pas de bien plus qu'un facteur deux. Dans le but de réduire les erreurs d'arrondis en minimisant le nombre de pas, c'est une approche de ce genre que nous avons retenue pour intégrer les équations du chapitre 4. Notre méthode, qui estime plutôt $O(h^5)$ et garde ce terme sous un seuil choisi, est évoquée dans Press 1992 (mais malheureusement aucun code n'y est fourni).

L'idée de base qui la sous-tend est de réaliser chaque itération parallèlement avec une méthode RK4 utilisant deux pas h successifs et une méthode RK4 utilisant d'un seul coup un pas $2h$. La différence entre les deux estimés obtenus permet de calculer les termes tronqués d'ordre cinq et plus.

En effet, les deux calculs RK4 doivent théoriquement donner le même résultat analytique $y(t + 2h)$ mais donnent y_{1n} dans le cas utilisant deux pas h successifs et y_{2n} dans le cas d'un seul pas $2h$. (Notez que l'indice n ne permet plus de déterminer le temps puisque ce dernier n'est plus $t = nh$; il indique seulement le numéro de l'itération.) On estime donc :

$$\begin{aligned} y(t+2h) &= y_{1n} + 2h^5\xi + O(h^6) \\ y(t+2h) &= y_{2n} + (2h)^5\xi + O(h^6) \end{aligned} \qquad \text{(équation AppC.20)}$$

Si on soustrait ces deux équations en y négligeant[29] les termes d'ordre 6 et plus, on obtient facilement que $y_{1n} - y_{2n} = -2h^5\xi + 32h^5\xi$. On considère cette différence comme un estimé de l'erreur de troncature d'ordre 5 :

$$\Delta = y_{1n} - y_{2n} = 30h^5\xi \propto O(h^5) \qquad \text{(équation AppC.21)}$$

L'objectif de l'algorithme est d'ajuster *h* afin que Δ demeure immédiatement sous un certain seuil. Si Δ est plus élevé que le seuil, on rejette le résultat, on réduit *h* et on recommence l'itération ; s'il est plus faible, on conserve le pas mais on augmente *h* pour le pas suivant.

Parmi les différents algorithmes de pas adaptatif, l'approche que nous venons de décrire présente deux avantages. Tout d'abord, si on avait utilisé la méthode RK4 et une méthode d'ordre 5 à chaque itération, on aurait plus que doublé la quantité d'opérations à réaliser par itération. En revanche, notre algorithme n'augmente cette quantité que de 50 % : calculer $y(t + 2h)$ en utilisant un pas fixe requiert deux exécutions de la méthode RK4 alors que notre algorithme en demande une seule de plus, avec un unique pas $2h$.

Deuxièmement, l'équation AppC.21 permet d'isoler ξ et d'écrire :

$$y(t + 2h) = y_{1n} + \frac{y_{1n} - y_{2n}}{15} + O(h^6) \qquad \text{(équation AppC.22)}$$

En plus de contrôler la taille du dernier terme de la série, notre algorithme permet donc de porter le résultat à l'ordre 5 et donc de réduire l'erreur de troncature à $O(h^6)$. Si on se rapporte à l'équation AppC.18, notre algorithme a donc pour conséquence de réduire au maximum le premier terme (moins d'itérations au total) mais aussi le second terme (erreur par itération d'ordre 6 plutôt que d'ordre 5).

À chaque itération, notre algorithme doit ajuster *h* afin de maintenir Δ immédiatement sous sa valeur cible. La procédure suivie pour ce faire est la même que l'itération précédente ait été conservée (*h* doit augmenter) ou rejetée (*h* doit diminuer) et se sert du fait que $\Delta \propto h^5$:

$$\frac{\Delta_{obtenu}}{\Delta_{voulu}} = \left(\frac{h_{utilisé}}{h_{voulu}}\right)^5 \qquad \text{(équation AppC.23)}$$

Dans le cas où l'équation AppC.1 est remplacée par l'équation AppC.2 (système d'équations), l'équation AppC.23 doit être appliquée à chaque équation et le plus gros rapport est celui qui doit être considéré pour l'ensemble des équations.

---

[29] Le terme d'ordre 6 est le plus souvent inférieur au terme d'ordre 5, mais il y a toutefois des exceptions. Par exemple, les fonctions paires ont des termes d'ordre 5 rigoureusement nuls, donc inférieurs à ceux d'ordre 6. Le cas qui nous occupe n'étant toutefois pas une exception de ce genre, on peut négliger les termes d'ordre 6 devant ceux d'ordre 5 sans difficulté. C'est d'ailleurs ce que les auteurs de *Numerical Recipies in C* recommandent de faire pour le cas général (Press 1992).

En pratique, et tel que recommandé par Press 1992 pour un autre algorithme de pas adaptatif, nous avons jugé que réduire de 10 % la valeur de *h* projetée par l'équation AppC.23 permettait de réduire pratiquement à zéro le nombre d'itérations rejetées et, donc, d'optimiser le temps d'exécution.

Enfin, soulignons que le seuil Δ_{voulu} doit être fixé de la même façon que *h* serait choisi dans le cas d'un algorithme à pas fixe.

AppC.3 Quelques autres aspects techniques

Nous terminons cet appendice en citant des détails techniques qui méritent d'être mentionnés ou en précisant les algorithmes qui ont été utilisés dans le cas de quelques tâches simples ou moins simples et qui n'ont pas été discutées ailleurs.

Forcer la valeur du pas. Au chapitre 4, notre modèle requiert parfois d'apporter un changement de paramètre ou une stimulation à un temps précis. Dans ces circonstances, il ne faut pas laisser l'équation AppC.23 fixer *h* de façon aléatoire et plutôt s'assurer qu'il «arrive pile». Une liste des temps qui doivent précisément terminer une itération et débuter la suivante est donc établie en début d'exécution et, à chaque itération, on s'assure que la valeur de *h* calculée pour la prochaine itération ne dépasse pas le temps suivant dans la liste ; le cas échéant, *h* est réduit pour aboutir précisément au temps de la liste.

De façon similaire, notre code permet de désactiver le pas adaptatif, forçant ainsi l'utilisation d'un pas fixe, ce que nous avons fait quand la simulation comportait du bruit.

Détection d'un NaN. L'utilisation de l'équation AppC.23 pose problème si la solution numérique présente des discontinuités, ce qui est justement le cas, au chapitre 4, quand nous stimulons le noeud de Ranvier #1 ou modifions un paramètre en cours de route. Il peut alors se produire que Δ_{obtenu} est très important et, donc, que le ratio $\Delta_{obtenu}/\Delta_{voulu}$ est immense. S'il excède la valeur maximale pouvant être stockée dans un réel de double précision, ce dernier sera encodé comme INF (infini) ou **NaN (*not a number*)**.

Toute opération impliquant un NaN et d'autres réels donne elle-même un NaN, si bien que le prochain pas *h* recommandé sera lui-même un NaN et que le reste de l'intégration numérique échouera. Pour éviter cette éventualité, il faut explicitement détecter les NaN. Or, il est impossible de coder quelque chose comme

```
if(variable == NaN)
```

puisque toute opération de comparaison avec un NaN donne faux, y compris la comparaison entre deux NaN... La solution que nous avons imaginé est de tirer profit de cette particularité en codant :

```
if(variable != variable)
```

En effet, la seule éventualité où cette opération sera évaluée comme vraie est celle où la variable est un NaN.

Choix des points pertinents pour la mise en graphique. Un autre aspect technique qui nécessite mention est celui de l'exportation des données qui, en langage C, doit être codée comme le reste. Certaines simulations comprennent des milliards d'itérations et il va sans dire que peu de logiciels de mise en graphique pourraient gérer un tableau qui les comporterait toutes, sans parler de l'espace disque qui serait utilisé.

La première option qui vient en tête est de faire un échantillonnage équidistant, par exemple en conservant un point sur 10000. Ceci remplit certes l'objectif de réduire le nombre de points totaux à quelques dizaine de milliers, mais ne convient pas : puisque le modèle HH a deux échelles de temps, conserver des points équidistants peut tronquer sérieusement des potentiels d'action. Une telle approche aboutirait à des graphiques peu représentatifs du phénomène. De plus, le point maximum de chaque potentiel d'action doit être conservé puisque le temps des maximums est utilisé pour comparer les trains d'impulsions au chapitre 4.

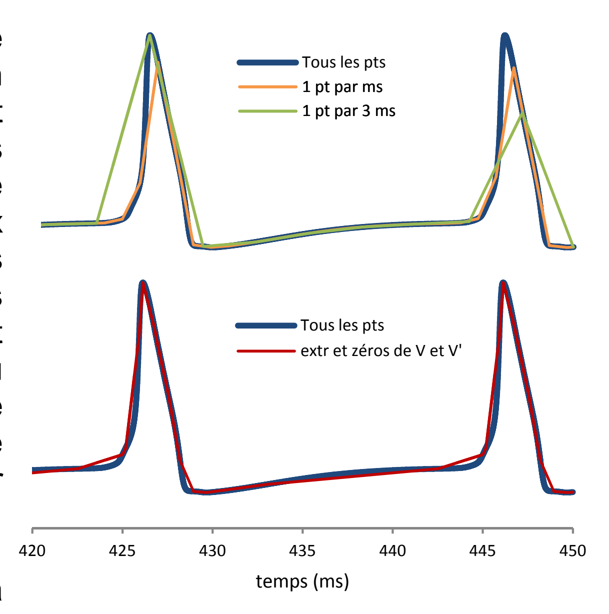


Figure AppC.3 La sélection de 10 ou 30 points équidistants représente mal la fonction et surtout ses maximums (haut), alors que la sélection des zéros et des extremums de V et V' produit un très bon résultat avec seulement 18 points (bas). La courbe en rouge comporte tous les points, soit plus de 31000 pour l'intervalle de 30 ms choisi.

Après de nombreux essais, il nous a paru que la meilleure méthode consistait à conserver au moins les points auxquels la fonction $V(t)$ ou sa dérivée présentent un zéro ou un extremum, comme l'illustre la **figure AppC.3**. Par sûreté, nous avons aussi ajouté au filtre la possibilité de détecter un écart trop important entre deux points et d'ajouter des points additionnels équidistants.

Notons que ce filtre doit évaluer la dérivée. Pour ce faire, nous utilisons le schème centré

$$\dot{V}_n \approx \frac{V_{n+1} - V_{n-1}}{t_{n+1} - t_{n-1}} \qquad \text{(équation AppC.24)}$$

et le comparons aux dérivées aux points voisins pour établir s'il est localement extrêmal ou quasi-nul. Quand la valeur obtenue est plus élevée que celle obtenue aux deux points voisins (ou plus faible que ces deux valeurs) le point est conservé par le filtre.

Si le pas temporel h est fixe, alors $t_{n+1} - t_{n-1} = 2h$ et on peut montrer que l'équation AppC.24 est valide au deuxième ordre. Nous avons toutefois utilisé cette équation pour estimer la dérivée seconde aussi dans l'éventualité où h n'était un pas adaptatif, une approximation rendue valable par le fait que h change relativement lentement. La seule conséquence observée a été que plus de points sont sélectionnés par le filtre quand le pas est variable. La figure AppC.3 montre que le résultat obtenu est néanmoins satisfaisant.

Évaluation de la fréquence. Pour réaliser plusieurs figures du chapitre 4, il a fallu être en mesure de détecter la fréquence d'un train d'impulsions (où chaque potentiel d'action était représenté par le temps où son maximum survient). Notre algorithme peut réaliser cette tâche de plusieurs façons différentes :

- D'abord, il est possible d'obtenir une «fréquence globale» en divisant le nombre total de potentiels d'action par la durée totale de la simulation (ou un intervalle différent, par exemple destiné à exclure une période transitoire). Cette approche n'est toutefois utilisée qu'à des fins essentiellement indicatives car elle ne dit rien des fluctuations de fréquence et ne permettrait pas, par exemple, de détecter qu'un verrouillage de phase a eu lieu.
- Ensuite, on peut détecter la fréquence en utilisant la réciproque de l'intervalle de temps entre chaque paire de potentiels d'action. L'avantage de cette approche est de permettre de voir la façon dont la fréquence varie avec le temps, mais elle est extrêmement sensible aux fluctuations. En conséquence, nous l'avons utilisé seulement dans tous les noeuds de Ranvier déchargeaient à une fréquence constante, ce qui exclut les cas où des fluctuations ou du bruit étaient présents.
- Enfin, on peut utiliser un *kernel* tel que décrit dans Dayan 2001, c'est-à-dire évaluer la fréquence en un temps *t* comme la fréquence moyenne dans une «fenêtre» qui contient ce temps *t*. Nous avons réalisé cette approche de deux façons, d'abord avec un kernel rectangulaire, où tous les potentiels d'action avaient la même importance dans le calcul de la fréquence, ensuite avec un kernel gaussien centré sur le temps *t*, où l'importance des potentiels d'action diminue quand ils sont plus loins du temps *t*. Bien qu'elles n'aient finalement pas été utilisées pour produire des figures au chapitre 4, ces deux approches ont été fort utile à la phase d'exploration de notre projet de recherche.

Évaluation de la métrique VP. Pour mesurer l'infidélité de la transmission, au chapitre 4, nous avons utilisé la métrique de Victor & Purpura (1996). Théoriquement, cette dernière nécessite d'évaluer toutes les façons de transformer un potentiel d'action en un autre (voir la figure 4.S3, au chapitre 4, pour un exemple d'une telle transformation).

Pour réaliser cette comparaison, le code que nous avons adapté de celui des auteurs de la métrique utilise une méthode itérative qui réduit graduellement la taille des trains d'impulsions à comparer. L'idée maîtresse est que la première étape de la comparaison visant à transformer S_a en S_b ne peut qu'être l'une des trois suivantes :

- effacer la première impulsion du train S_a pour obtenir S_a' ;
- déplacer la première impulsion du train S_a au temps de la première impulsion de S_b, ce qui produit S_a'' ;
- ajouter une impulsion au train S_a au temps de la première impulsion de S_b (ceci équivaut à appliquer la première des trois possibilités quand on transforme S_b en S_a).

On stocke donc le coût de chacune de ces trois opérations dans une matrice **M**, respectivement dans éléments M_{10}, M_{11} et M_{01}. De façon similaire, on remplit le reste de la matrice par itération. Chaque élément M_{ij} est le coût minimal pour faire correspondre les *i* premières impulsions de S_a avec les *j* premières de S_b, les autres étant ignorés. Par exemple, les éléments diagonaux ne compare que des nombres égaux d'impulsions, alors que les éléments non diagonaux incluent nécessairement des coûts dus à des ajouts ou des retraits d'impulsions. Au terme du processus, le coin inférieur droite de la matrice contient donc le coût recherché.